

Everolimus zur Therapie der fortgeschrittenen
steroidresistenten chronischen Graft-versus-Host
Erkrankung nach allogener hämatopoetischer
Stammzelltransplantation

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Anne Klink
aus Halle/Saale

GUTACHTER

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Andreas Hochhaus, Jena
2. Gutachter: Prof. Dr. med. James Friderich Beck, Jena
3. Gutachter: PD Dr. med. Urs Schanz, Zürich

Tag der öffentlichen Verteidigung: 05.12.2017

VERÖFFENTLICHUNGEN

Vorarbeiten zu dieser Dissertation wurden veröffentlicht:

Posterabstract:

50th ASH Annual Meeting & Exposition, December 2008, San Francisco, California

Klink A, Schilling K, Rapp K, Höffken K, Sayer HG.

High overall response rate in calcineurin inhibitor-free treatment with the mTOR inhibitor everolimus in advanced extensive chronic GvHD after allogeneic stem cell transplantation. Blood. 2008; 112 (suppl): 2210

Vortragsabstracts:

Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Hämatologie und Medizinische Onkologie, Oktober 2012, Stuttgart

Klink A, Schilling K, Schenk T, Hochhaus A, Sayer H.G.

Infectious disease of salvage therapy with everolimus in moderate and severe chronic GvHD after allogeneic stem cell transplantation. Oncology Research and Treatment 2012; 35 (suppl 6):179

Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Hämatologie und Medizinische Onkologie, Oktober 2016, Leipzig

Klink A, Hilgendorf I, Schilling K, Hochhaus A, Sayer H.G.

Improving the NIH cGVHD severity scores using salvage everolimus-based therapy in moderate and severe chronic GVHD. Oncology Research and Treatment 2016; 39 (suppl 3):131

für Rebecca

Abkürzungsverzeichnis

aGvHD	akute Graft-versus-Host-Erkrankung
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
APC	Antigenpräsentierende Zelle
ATG	Antithymozytenglobulin
BA	Bewegungsapparat
BADE-PUVA	Psoralen+UV-A-Bad-Photochemotherapie
BU	Busulfan
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
CML	Chronische myeloische Leukämie
CMML	Chronische myelomonozytäre Leukämie
CMV	Cytomegalievirus
CNI	Calcineurininhibitoren
CD	Cluster of Differentiation
cGvHD	chronische Graft-versus-Host-Erkrankung
CR	komplette Remission
CsA	Ciclosporin, Cyclosporin A
CT	Computertomographie
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Events
CY	Cyclophosphamid
CYP3A4	Cytochrom-P450-3A4-Isoenzym
d	Tag
ECP	Extrakorporale Photopherese
FRAP	FKBP-12-Rapamycin assoziiertes Protein
FKBP-12	FK-Bindungsprotein 12
FK506	Tacrolimus
G1	erste Interphase im Zellzyklus
GIT	Gastrointestinaltrakt
GvHD	Graft-versus-Host-Disease (Erkrankung)
GvL	Graft-versus-Leukemia
Gy	Gray
G-CSF	Granulozyten - Kolonie stimulierender Faktor
HLA	Humanes Leukozytenantigen
HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
HSV-1	Herpes-simplex-Virus Typ 1

IBMTR	International Bone Marrow Transplant Registry
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IS	Immunsuppression
k.A.	keine Angabe
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KM	Knochenmark
KMT	Knochenmarktransplantation
KOF	Körperoberfläche
LGL	Large granular Lymphocytes
m ²	Quadratmeter
Max	Maximum
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
mg	Milligramm
MHC	Major Histokompatibilitätskomplex
Min	Minimum
ml	Milliliter
MMF	Mycophenolat Mofetil, Synonym: Mycophenolat
mmol	millimol
MR	Mixed Response = gemischtes Ansprechen
MSH	Mundschleimhaut
mTOR	mechanistic Target of Rapamycin (früher: mammalian Target of Rapamycin)
MTX	Methotrexat
n	Patientenanzahl
n _{Ereignis}	Ereignisanzahl
NC	No Change = keine Änderung = stabile Erkrankung
n.e.	nicht evaluiert
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
NIH	National Institut of Health
NK-Zellen	Natürliche Killer-Zellen
NK-Zell-Leukämie	Natürliche-Killer-Zell-Leukämie
n.s.	nicht signifikant
OR	Overall Response = allgemeines Ansprechen
PBSZ	periphere Blutstammzellen
PBSZT	periphere Blutstammzelltransplantation

PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PD	Progressive Disease = progrediente Erkrankung
PI-3	Phosphoinositid-3-Kinase
P70 S6	Ribosomales Protein S6 Kinase beta 1
pp65	humanes Cytomegalievirus spezifische Antigen Phosphoprotein 65
PR	Partielle Remission
PSL	Prednisolon
RAD001	Everolimus
S	zweite Interphase im Zellzyklus
SD	Stable Disease = stabile Erkrankung
sAML	sekundäre akute myeloische Leukämie
tAML	therapieassoziierte akute myeloische Leukämie
TBI	total body irradiation = Ganzkörperbestrahlung
TD	Tagesdosis
TMA	thrombozytopenische Mikroangiopathie
TNF α	Tumor-Nekrose-Faktor α
UPN	Unique Patient Number = eindeutige Patientennummer
UVA-1	selektive Ultraviolett 1 - Phototherapie
vgl.	Vergleich
VZV	Varizella-Zoster-Virus
WHO	World Health Organisation
z.B.	zum Beispiel
μ	mikro
4E-BP1	Eukaryotischen Initiationfaktor 4E Bindungsprotein-1

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: GvHD-Klassifikation des NIH [Filipovich et al. 2005]	6
Abbildung 2: Everolimus-Molekül [Kuhn et al. 2001]	9
Abbildung 3: Molekularer Wirkmechanismus von Everolimus	10
Abbildung 4: aGvHD-Schweregrad nach Glucksberg-Kriterien	21
Abbildung 5: Kumulative Inzidenz der aGvHD nach Glucksberg	21
Abbildung 6: aGvHD-Schweregrad nach Konsensus aGvHD 1994	22
Abbildung 7: IBMTR-Schweregrad-Index für aGvHD	23
Abbildung 8: Medikamentöse Therapie der aGvHD	24
Abbildung 9: Verteilung der everolimushaltigen Behandlungslinien	31
Abbildung 10: Ko-Therapeutika Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP) mit Everolimusstart	33
Abbildung 11: Überlebenswahrscheinlichkeit der Gesamtpopulation	42
Abbildung 12: Überlebenswahrscheinlichkeit abhängig vom Gesamtschweregrad der cGvHD	43
Abbildung 13: Überlebenswahrscheinlichkeit abhängig vom Therapieansprechen der moderaten und schweren cGvHD	44
Abbildung 14: Überlebenswahrscheinlichkeit bezogen auf den Remissionsgrad	45
Abbildung 15: Überlebenswahrscheinlichkeit bezogen auf das Therapieansprechen bei der moderater cGvHD	46
Abbildung 16: Überlebenswahrscheinlichkeit bezogen auf das Therapieansprechen bei der schwerer cGvHD	47
Abbildung 17: Überlebenswahrscheinlichkeit bezogen auf den Gesamtschweregrad am Beobachtungszeitende	48
Abbildung 18: Häufigkeit der Symptome und Formen der cGvHD der Haut mit Everolimustherapiebeginn	50
Abbildung 19: Mediane CD4+T-Lymphozytenanzahl während der Everolimusbe- handlung in Abhängigkeit vom Behandlungsansprechen	59
Abbildung 20: Mediane CD8+T-Lymphozytenanzahl während der Everolimus- behandlung in Abhängigkeit vom Behandlungsansprechen	59
Abbildung 21: Mediane CD4/CD8-Ratio während der Everolimusbehandlung in Abhängigkeit vom Behandlungsansprechen	60
Abbildung 22: Mediane CD19+B-Lymphozytenanzahl während der Everolimus- behandlung in Abhängigkeit vom Behandlungsansprechen	60
Abbildung 23: Mediane CD56+NK-Lymphozytenanzahl während der Everolimus- behandlung in Abhängigkeit vom Behandlungsansprechen	61
Abbildung 24: CD4+T-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende in Abhängigkeit vom Ansprechen ($p_{CD4CR/PR}=0,133$; $p_{CD4MR}=0,541$; $p_{CD4SD/PD}=0,398$) ...	62
Abbildung 25: CD8+T-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende in Abhängigkeit vom Ansprechen ($p_{CD8CR/PR}=0,925$; $p_{CD8MR}=0,139$; $p_{CD8SD/PD}=0,184$) ...	62
Abbildung 26: CD4/CD8-Ratio mit Therapiebeginn und -ende in Abhängigkeit vom Ansprechen ($p_{RatioCR/PR}=0,068$; $p_{RatioMR}=0,068$; $p_{RatioSD/PD}=0,068$)	63
Abbildung 27: CD19+B-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende in Abhängigkeit vom Ansprechen ($p_{CD19CR/PR}=0,074$; $p_{CD19MR}=0,374$; $p_{CD19SD/PD}=0,943$)	63
Abbildung 28: CD56+NK-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende in Abhängig- keit vom Ansprechen ($p_{CD56CR/PR}=0,407$; $p_{CD56MR}=0,444$; $p_{CD56SD/PD}=0,267$)	64
Abbildung 29: Mediane CD4+T-Lymphozytenzahl während der Everolimustherapie abhängig der Immunsuppressionskombination	65
Abbildung 30: Mediane CD8+T-Lymphozytenzahl während der Everolimustherapie abhängig der Immunsuppressionskombination	65
Abbildung 31: Mediane CD4/CD8-Ratio während der Everolimustherapie abhängig der Immunsuppressionskombination	66

Abbildung 32: Mediane CD19+B-Lymphozytenzahl während der Everolimustherapie abhängig der Immunsuppression	66
Abbildung 33: Mediane CD56+NK-Lymphozytenzahl während der Everolimustherapie abhängig der Immunsuppression	67
Abbildung 34: CD4+T-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende abhängig zur Immunsuppressionskombination ($p_{CD4RAD001+PSL}=1,000$; $p_{CD4RAD001PSL+MMF}=0,496$; $p_{CD4RAD001+PSL+MMF+ECP}=0,893$)	68
Abbildung 35: CD8+T-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende abhängig zur Immunsuppressionskombination ($p_{CD8RAD001+PSL}=0,427$; $p_{CD8RAD001PSL+MMF}=0,909$; $p_{CD8RAD001+PSL+MMF+ECP}=0,381$)	68
Abbildung 36: CD4/CD8-Ratio mit Therapiebeginn und -ende abhängig zur Immunsuppressionskombination ($p_{RatioRAD001+PSL}=0,955$; $p_{RatioRAD001PSL+MMF}=0,155$; $p_{RatioRAD001+PSL+MMF+ECP}=0,345$)	69
Abbildung 37: CD19+B-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende abhängig der Immunsuppressionskombination ($p_{CD19RAD001+PSL}=0,125$; $p_{CD19RAD001PSL+MMF}=0,917$; $p_{CD19RAD001+PSL+MMF+ECP}=0,500$)	69
Abbildung 38: CD56+NK-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende abhängig der Immunsuppressionskombination ($p_{CD56RAD001+PSL}=0,427$; $p_{CD56RAD001PSL+MMF}=0,334$; $p_{CD56RAD001+PSL+MMF+ECP}=0,345$)	70
Abbildung 39: Korrelation der CD19+B-Lymphozytenzahl zum IgG-Spiegel mit Therapiebeginn von Everolimus	71
Abbildung 40: Ansprechen und Immunglobulinspiegel IgG, IgM und IgA	72

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Patientencharakteristika.....	15
Tabelle 2:	Merkmale zur allogenen Blutstammzelltransplantation.....	16
Tabelle 3:	Standardkonditionierungsregime	17
Tabelle 4:	Dosisreduzierte Konditionierungen	18
Tabelle 5:	Transplantierte hämatopoetische Stammzellzahl.....	18
Tabelle 6:	Primäre GvHD-Prophylaxe.....	19
Tabelle 7:	Indikationen zur Umstellung auf eine sekundäre GvHD-Prophylaxe ..	19
Tabelle 8:	Historische Klassifikation der cGvHD	27
Tabelle 9:	Schweregradeinteilung der cGvHD [<i>nach Filipovich et al. 2005</i>]	27
Tabelle 10:	cGvHD-Therapie vor Behandlungsbeginn mit Everolimus.....	30
Tabelle 11:	Indikationsstellung für Everolimus.....	32
Tabelle 12:	Verbesserung des Gesamtschweregrades unter Everolimus	34
Tabelle 13:	Remissionsstatus am Beobachtungszeitende mit Everolimus.....	35
Tabelle 14:	Remissionsstatus innerhalb einer Behandlungslinie bei moderater und schwerer cGvHD.....	36
Tabelle 15:	Remissionsstatus unter Berücksichtigung der GvHD-spezifischen Komedikation bei moderater und schwerer cGvHD	37
Tabelle 16:	Remissionsstatus und Dosisverhalten von MMF	40
Tabelle 17:	Überleben abhängig vom Gesamtschweregrad der cGvHD	42
Tabelle 18:	Überleben abhängig vom Therapieansprechen unter Everolimus	44
Tabelle 19:	Überleben abhängig vom Therapieansprechen auf Everolimus bezogen auf den Gesamtschweregrad	45
Tabelle 20:	Überleben abhängig vom Gesamtschweregrad am Beobachtungszeitende	47
Tabelle 21:	Schweregradänderung der cGvHD der Haut unter Everolimus	50
Tabelle 22:	Remission der cGvHD der Haut.....	51
Tabelle 23:	Remissionsstatus der kutanen cGvHD und Gesamtansprechen	53
Tabelle 24:	Therapieansprechen der cGvHD der Haut innerhalb der Behandlungslinie	54
Tabelle 25:	Organbezogenes Ansprechen	55
Tabelle 26:	Dosisreduktion von Prednisolon und Mycophenolat hinsichtlich des organbezogenen Ansprechens	57
Tabelle 27:	Gesamtübersicht über die aufgetretenen Infektionen mit der Spezifikation und dem CTCAE-Schweregrad	74
Tabelle 28:	Auftreten einer CMV-Reaktivierung.....	75
Tabelle 29:	Unerwünschte nichtinfektiöse Ereignisse unter Everolimus.....	79
Tabelle 30:	Therapieansprechen im Studienvergleich	81
Tabelle 31:	Therapieansprechen bei cGvHD der Haut im Studienvergleich.....	85
Tabelle 32:	Therapieansprechen bei cGvHD der Mundschleimhaut im Studienvergleich	86
Tabelle 33:	Therapieansprechen bei cGvHD des Auges im Studienvergleich.....	87
Tabelle 34:	Therapieansprechen bei cGvHD des Gastrointestinaltraktes im Studienvergleich	88
Tabelle 35:	Therapieansprechen bei cGvHD der Leber im Studienvergleich	89

Inhaltsverzeichnis

Gutachter	I
Veröffentlichungen	II
Widmung	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	VII
Tabellenverzeichnis	IX
Inhaltsverzeichnis	X
1 Zusammenfassung	1
2 Einleitung	3
2.1 Graft-versus-Host-Erkrankung	3
2.1.1 Geschichtlicher Hintergrund der GvHD	3
2.1.2 Pathophysiologie der GvHD	5
2.1.3 Inzidenz der akuten GvHD	5
2.1.4 Klassifikation der akuten GvHD	5
2.1.5 Prävention und Therapie der akuten GvHD	6
2.1.6 Klinische Manifestation und Klassifikation der chronischen GvHD	7
2.1.7 Prävention und Therapie der chronischen GvHD	8
2.2 Everolimus (RAD 001, Certican®)	9
2.2.1 Wirkmechanismus von Everolimus	9
2.2.2 Pharmakokinetik	10
2.2.3 Indikationen	11
2.2.4 Nebenwirkungen	11
3 Ziele der Arbeit	13
4 Patienten, Methoden und Statistik	14
4.1 Studiendesign	14
4.2 Patienten	14
4.2.1 Patientencharakteristika	14
4.2.2 Merkmale zur allogenen Blutstammzelltransplantation	15
4.2.3 Konditionierung	17
4.2.4 Transplantation	18
4.2.5 GvHD-Prophylaxe	18
4.2.6 Hämatopoetische Rekonstitution	19
4.2.7 Wachstumsfaktorengabe und Engraftmentsyndrom	20
4.2.8 Auftreten der akuten GvHD	20

4.2.9 Therapie der akuten GvHD.....	23
4.3 Methoden	24
4.3.1 Datenerfassung	24
4.3.2 Labormedizin und immunologische Analysen	25
4.3.3 Einschlusskriterien zur Behandlung mit Everolimus	26
4.3.4 Ausschlusskriterien zur Behandlung mit Everolimus	26
4.3.5 Historische Klassifikation der chronischen GvHD.....	26
4.3.6 Reklassifikation nach den Konsensuskriterien der NIH	27
4.3.7 Definition des Therapieansprechens	28
4.4 Statistik.....	29
5 Ergebnisse	30
5.1 Applikationsdauer und Therapiebeginn von Everolimus.....	30
5.2 Vorbehandlung der cGvHD	30
5.3 Indikation zur Umstellung auf Everolimus.....	31
5.4 Behandlungskombinationen von Everolimus.....	32
5.5 Gesamtschweregrad der cGvHD	33
5.6 Everolimusdosierung und Plasmaspiegel.....	33
5.7 Allgemeines Therapieansprechen	34
5.7.1 Allgemeines Ansprechen nach historischer cGvHD-Klassifikation ..	34
5.7.2 Allgemeines Ansprechen nach NIH-Klassifikation der cGvHD	34
5.7.3 Therapieansprechen abhängig von der Behandlungslinie.....	35
5.7.4 Therapieansprechen abhängig von der Medikamentenkombination	36
5.7.5 Zeitliches Therapieansprechen	37
5.7.6 Steroid-sparender Effekt unter Everolimus.....	38
5.7.7 Dosisreduktion und Beendigung von Mycophenolat.....	39
5.7.8 Beendigung der extrakorporalen Photopherese	40
5.7.9 GvHD-risikobestimmende Faktoren und der Gesamtschweregrad .	41
5.7.10 Überleben nach Initiierung der Everolimustherapie	41
5.8 Organbezogenes Therapieansprechen	49
5.8.1 Organbezogenes Therapieansprechen der Haut	49
5.8.2 Therapieansprechen der cGvHD bei weiteren Organmanifestationen (MSH, Auge, GIT, Leber, Lunge, Genitaltrakt, Bewegungsapparat)	54
5.9 Beeinflussung der Lymphozytensubpopulationen unter Everolimus	58
5.9.1 Lymphozytäre Zellreihen in Abhängigkeit vom Behandlungsan- sprechen	58

5.9.2 Lymphozytäre Zellreihen in Abhängigkeit der eingesetzten Ko- Immunsuppressiva	64
5.10 Beeinflussung der Immunglobulinspiegel unter Everolimus	71
5.11 Infektiologische Komplikationen	73
5.11.1 Art und Häufigkeit der aufgetretenen Infektionen	73
5.11.2 Cytomegalievirus - Reaktivierungen	75
5.11.3 Herpes-simplex-Virus Typ1 - Infektionen	75
5.12 Verträglichkeit, Nebenwirkungen und Toxizitäten	77
6 Diskussion	80
6.1 Allgemeines Therapieansprechen	80
6.2 Organbezogenes Therapieansprechen	84
6.3 Beeinflussung der lymphozytären Subpopulationen unter Everolimus ..	91
6.4 Beeinflussung der Immunglobulinspiegel unter Everolimus	93
6.5 Infektiologische Komplikationen	93
6.6 Verträglichkeit, Nebenwirkungen, Toxizitäten.....	95
7 Schlussfolgerungen	96
8 Literaturverzeichnis	98
9 Anhang	118
9.1 Tabellarischer Lebenslauf	118
9.2 Ehrenwörtliche Erklärung	119
9.3 Danksagung	120

1 Zusammenfassung

Die Behandlung der chronischen GvHD nach allogener Stammzelltransplantation stellt auch nach langjähriger Etablierung der klinischen Stammzelltransplantation eine besondere Herausforderung dar. Der Mangel an Therapiestudien erschwert die Aufstellung klinischer Behandlungspfade für die zumeist langjährige Betreuung der Patienten. Die vorliegende retrospektive Datenanalyse untersucht die klinischen Ergebnisse fortgeschrittener chronischer GvHD mit dem Immunsuppressivum Everolimus am Stammzelltransplantationszentrum der Klinik für Innere Medizin II (Abteilung Hämatologie und Onkologie) am Universitätsklinikum Jena über einen Zeitraum von vier Jahren (2006 bis 2010). Everolimus, ein Proliferationshemmer der m-TOR-Proteinkinase (Certican® in einer Standarddosis von 2 x 0,75 mg p.o. täglich), wurde bei Versagen der primären Standardtherapie mit Kortikosteroiden als Zweitlinienbehandlung und als höhergradige Salvagetherapie zumeist in Kombination mit Prednisolon und/oder Mycophenolat und/oder Lichttherapie mittels extrakorporaler Photopherese bei 38 Einzelverläufen eingesetzt. Mit Reklassifizierung dieser Studienpopulation nach dem im Jahr 2005 eingeführten NIH-Kriterien wurden das allgemeine Therapieansprechen, die Ansprechzeit, das Überleben, der organbezogenen Therapiewirksamkeit und die Sicherheit im Sinne von Nebenwirkungen und Toxizitäten dieser Immunsuppressionstherapie überprüft. Alle Patientendaten der Stammzelltransplantationsambulanz der Klinik wurden über elektronische Datensysteme und der Krankenakte aufgenommen sowie mittels statistischer Standardmethoden ausgewertet. Die mediane Behandlungszeit mit Everolimus umfasste einen Zeitraum von 7,1 Monaten. Eine Verbesserung des Gesamtschweregrades nach NIH-Kriterien konnte bei 20 Patienten (52,6%) erreicht werden. Bei 4 Patienten (10,5%) in der Gesamtkohorte war eine komplette Remission und bei 13 Patienten (34,2%) eine partielle Remission zu verzeichnen. Von denen bei 11 Patienten (28,9%) eine Reduktion der Steroiddosis unter Everolimus ermöglicht wurde. Unter 21 Patienten die zusätzlich Mycophenolat erhielten, konnte eine Beendigung dieses Ko-Therapeutikums zu 33,3% erreicht werden. Organbezogenes Ansprechen zeigte sich bei cGvHD der Haut in 63,6% der Fälle, bei cGvHD der Mundschleimhaut in 61,6%, bei cGvHD der Augen in 30,0%, bei cGvHD des

Gastrointestinaltraktes in 33,3%, bei hepatischer cGvHD in 45,0% und bei cGvHD der Faszien und Gelenke in 60,0% der Fälle. Während einer medianen Beobachtungszeit von 977 Tagen überlebten 78,9% der Patienten. Das Nebenwirkungsspektrum war moderat mit einer besonderen Häufigkeit für Lipidstoffwechselstörungen (21,9%). Hervorzuheben ist die signifikant geringe CMV-Reaktivierungsrate mit nur vereinzelten Reaktivierungen und klinischer Erkrankungsmanifestation des Cytomegalievirus ($p=0,0001$). Diese CMV-Protektion unter immun-suppressiver Medikation ist aus dem Bereich der hämatologischen Stammzelltransplantation so bisher noch nicht beschrieben worden. Die Arbeit beschreibt an einem größeren Krankengut komplexe klinische cGvHD - Verläufe unter dem mTOR-Inhibitor Everolimus als Therapieoption der steroidresistenten moderaten und schweren chronischen GvHD. Studien, die möglichst randomisiert Everolimus gegen anderer wirksame Substanzen bei chronischer GvHD untersuchen, sind angezeigt, insbesondere um die Effektivität im organspezifischen Ansprechen zu prüfen. Durch die vorliegende Analyse zeigen sich allerdings auch die Schwierigkeiten bei fortgeschrittener cGvHD, die Ansprechbarkeit der Optionen allgemein, eine Organspezifität oder gar den Einfluss der Komedikation statistisch herauszuarbeiten. Die NIH-Klassifikation 2005 mit Weiterentwicklung von 2014 erhöht die Trennschärfe der Beurteilung chronischer GvHD-Verläufe und ein mögliches Ansprechen im Verlauf.

2 Einleitung

Die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT) ist heute eine wichtige Methode in der kurativen Behandlung von hämatologischen Systemerkrankungen und bei angeborenen Erkrankungen des Immunsystems. Kompatible Stammzellen von einem gesunden Spender können nach Vorbehandlung und immunsuppressiver Behandlung des Empfängers die erkrankte Hämatopoese vollständig und anhaltend ersetzen. Eine grundlegende Voraussetzung für die Etablierung dieser Behandlungsmethode war neben der Entwicklung myeloablativer Konditionierungsprotokolle und immunsuppressiver Regime die Entdeckung der Histokompatibilitätsmerkmale zur Identifizierung verträglicher Stammzellspender zunächst aus der unmittelbaren Familie der Patienten. In den vergangenen 30 Jahren konnten Transplantationsprotokolle einschließlich der Gabe medikamentöser Immunsuppressiva nach Stammzellgabe entwickelt werden, die zu weniger schwerer therapieassoziiierter Toxizität führen und damit zu einer Reduktion der therapieassoziierten Mortalität beigetragen haben.

Eine der besonderen und schwerwiegenden Komplikationen der allogenen HSZT stellt die Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD) – Transplantat gegen Wirt Erkrankung – dar. Sie muss als eine immunologische Folgereaktion zwischen den antigenpräsentierenden Zellen des Empfängers und den reifen T-Lymphozyten des Spenders angesehen werden.

2.1 Graft-versus-Host-Erkrankung

2.1.1 Geschichtliche Hintergründe der Graft-versus-Host-Erkrankung

Die ersten humanen Knochenmarktransplantationen wurden durch E.D. Thomas und seinen Kollegen in Seattle (Fred-Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA, USA) durchgeführt und 1957 beschrieben [Thomas *et al.* 1957]. Kaum ein Patient überlebte allerdings längerfristig aufgrund von primären Transplantatversagen (Graft failure), schweren Infektionen, Blutungskomplikationen und Auftreten von Rezidiven der Grunderkrankung. Gründe der Misserfolge lagen zum einen darin, dass zu diesem Zeitpunkt gerade erste Erkenntnisse zum Humanen-Leukozyten-Antigen-System (HLA) durch J. Dausset 1958 und R. Ceppellini 1969 vorlagen und es dauerte noch bis in die 1970iger Jahre an bis die genomische Orte für das HLA-System auf

dem kurzen Arm des Chromosoms 6 entdeckt wurden [Dausset 1958, Ceppellini et al. 1969, Yunis et al. 1976]. Mitte der 1980er Jahre gelang es mit Hilfe von molekularbiologischen Methoden die komplexe Aufschlüsselung des Systems. Des Weiteren waren noch keine Kenntnisse über die Verhinderung einer primären Abstoßung durch eine ausreichende immunsuppressive Vorbehandlung vor Knochenmarktransplantation vorliegend. Die von E.D. Thomas entwickelte hochdosierte Ganzkörper-Bestrahlung zusammen mit der von G.W. Santos angewandten Hochdosis-Cyclophosphamid-Therapie wurden in den folgenden Jahren als kombinierte Vorbehandlungen zum Standard [Buckner et al. 1970, Santos et al. 1974]. Ebenso brachten erst spätere Fortschritte in der antiviralen, antibiotischen und antimykotischen Therapie sowie die bessere peritransplantäre Versorgung mit Blutprodukten aus der Transfusionsmedizin eine langsame aber stetige Verbesserung der Transplantationsresultate.

In der 1960iger Jahre wurde nach erfolgreichem Anwachsen (englisch: engraftment) des Spenderknochenmarkes häufig ein generalisierendes Erythem, ein Ikterus und/oder eine schwere Diarrhoe beobachtet. Diese Symptomatik der immunologischen Unverträglichkeitsreaktion (Graft-versus-Host-Disease) ist als Waisting-Syndrom oder auch als Sekundärsyndrom („secondary disease“) bezeichnet wurden. Mit diesem Syndrom wurde eine Reaktion von Immunzellen im Empfängergewebe beschrieben, welche im späteren Verlauf als Graft-versus-Host-Erkrankung bezeichnet wurde [Billingham und Brent 1957, Van Bekkum et al. 1959, Thomas et al. 1979]. Mit wachsenden Erkenntnissen zum HLA-System und mit der Entwicklung und dem Einsatz von neuen immunsuppressiven Medikamenten konnte aber im weiteren Verlauf zum einen das primäre Transplantatversagen (graft failure) und zum anderen das Sekundärsyndrom (GvHD) öfter verhindert sowie besser behandelt und kontrolliert werden. Jean Dausset erhielt den Nobelpreis in Medizin 1980 für seine Grundlagenforschung betreffend des HLA-Systems und E. Donnall Thomas 1990 für seine grundlegenden klinischen Arbeiten.

2.1.2 Pathophysiologie der GvHD

T-Zellen im Transplantat sind als Mediator Zellen der akuten GvHD beschrieben und erkannt. Die Graft-versus-Host-Erkrankung richtet sich gegen Major- und Minor-Histokompatibilitätsantigene des Empfängers. Bei der akuten GvHD kommt dem Antigen präsentierenden Zellen des Empfängers (host APC's) eine entscheidende Triggerfunktion zu. Der exakte Pathomechanismus ist trotz zahlloser Bemühungen nicht eindeutig beschrieben [Ferrara et al. 1999, Ferrara et al. 2009]. Ein dreistufiger Prozess, beginnend mit den Effekten der notwendigen Konditionierungstherapie vor der Stammzellgabe auf die Empfänger Antigen präsentierenden Zellen (host APC's) wird zurzeit am ehesten postuliert. $\text{TNF}\alpha$, Interleukin 1 (IL1), Lipopolysaccharide eröffnen über die angegriffenen Epithelien des Patienten (hauptsächlich im Gastrointestinaltrakt) im nächsten Schritt die inflammatorische Zytokinkaskade. In diesem Milieu interagieren die transplantierten T-Lymphozyten neben wohl auch anderen Zellkomponenten mit den Empfänger APC's. In dieser T-Zell-Aktivierungsstufe sind Interleukin 2 und Gamma-Interferon die beteiligten Zytokine. In der dritten Phase schließlich führen unter Beteiligung zahlreicher Botenstoffe im Sinne eines ‚Zytokinsturmes‘ ($\text{TNF}\alpha$, IL1, Nitrid oxide etc.) zytotoxische Effektorzellen, natürliche Killerzellen (NK-Zellen) und large granular Lymphozyten (LGL's) zur klinischen Organschädigung [Reddy und Ferrara 2003].

2.1.3 Inzidenz der akuten GvHD

Abhängig von verschiedenen Risikofaktoren muss mit dieser häufigsten Komplikation nach allogener SZT bei 40% der Patienten mit einem Schweregrad II - IV bei HLA-identischer HSZT gerechnet werden [Ferrara et al. 2009]. Die Inzidenz liegt zwischen 10 - 80% je nach HLA-kompatibler Spendersituation, den Einsatz von unverwandten Spendern, der Konditionierung, dem Alter und der GvHD-Prophylaxe des Patienten [Deeg 2007].

2.1.4 Klassifikationen der akuten GvHD

Die traditionelle GvHD-Einteilung nach Glucksberg - neben der erstmaligen Einzelbeurteilung der Organsysteme Haut, Leber und Verdauungsapparat - orientierte sich 1974 am zeitlichen Auftreten der immunologischen

Unverträglichkeitsreaktion in einer Gesamtstadienbeurteilung [Glucksberg et al. 1974]. Es galt die Einteilung in eine akute GvHD vor dem Tag plus 100 und in eine chronische GvHD nach dem Tag plus 100 nach Stammzellgabe. Nach dem Konsens des National Institut of Health (NIH) von 2005 etablierte sich eine neue Einteilung einschließlich eines sogenannten Overlap-Syndroms, die sich primär an bestimmten klinischen Zeichen und Symptomen von akuter und chronischer GvHD orientiert, Abbildung 1 [Filipovich et al. 2005].

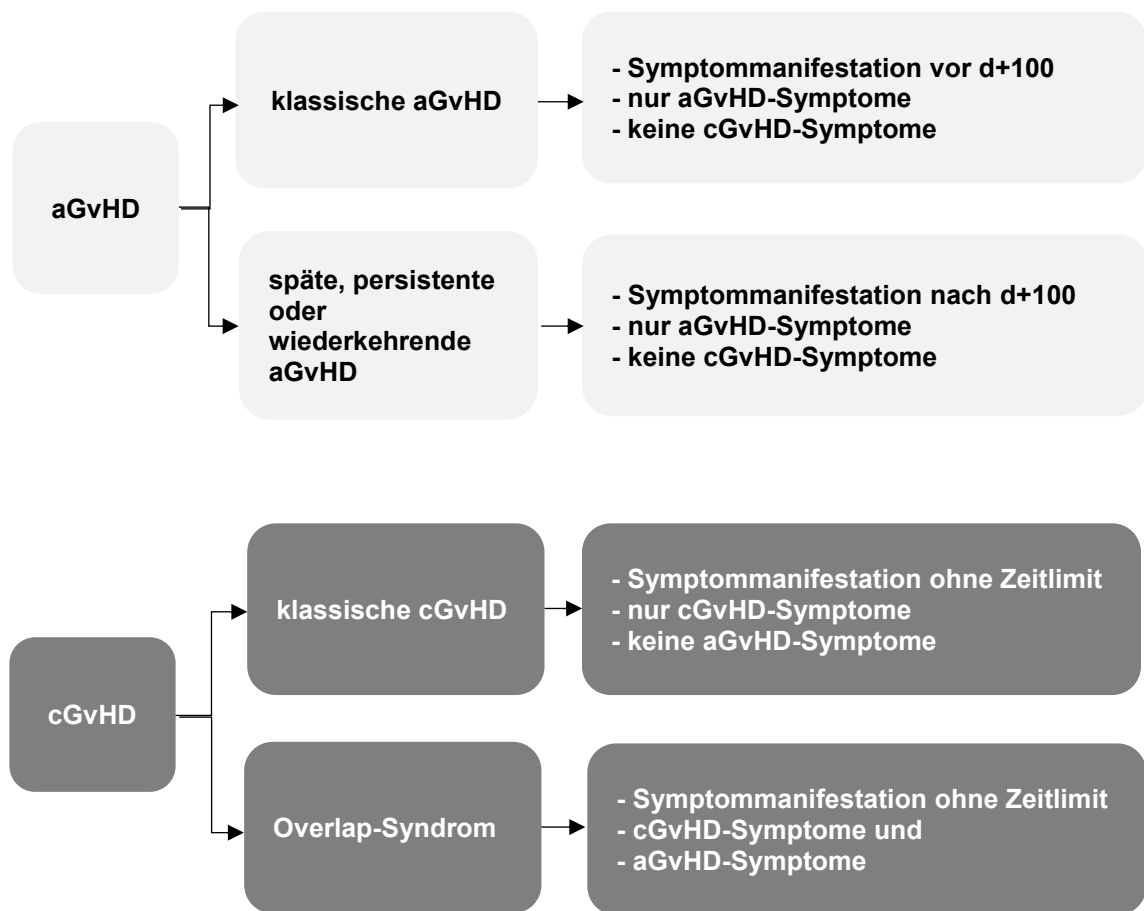


Abbildung 1: GvHD-Klassifikation des NIH [Filipovich et al. 2005]

Legende: akute Graft-versus-Host-Erkrankung (aGvHD),
chronische Graft-versus-Host-Erkrankung (cGvHD)

2.1.5 Prävention und Therapie der akuten GvHD

Da weiterhin die akute GvHD eine hohe frühe Mortalität für die stammzelltransplantierten Patienten aufweist, kommt der Prävention mit einer immunsuppressiven Medikation eine entscheidende Bedeutung zu. Als GvHD-Prophylaxe kommen Calcineurininhibitoren (Cyclosporin A, Tacolimus), Methotrexat, Mycophenolat und in-vivo-T-Zell-Depletionsverfahren wie

Antithymozytenglobulin oder seltener Alemtuzumab (Anti-CD52) zum Einsatz. Bei haploidenten HSZTs hat Cyclophosphamid einen besonderen Stellenwert als Maßnahme zur GvHD-Prävention. Bei der Therapie einer trotz durchgeführten Prophylaxe manifesten akuten GvHD ist Methylprednisolon oder Prednisolon zumeist in einer Dosis von 2 mg/kg Körpergewicht weltweiter Standard. Parallel wird die in der Regel CNI-basierte Prophylaxeimmunsuppression weitergeführt. Liegt eine steroidresistente akute GvHD vor, so ist eine Zweitlinientherapie nach spätestens 14 Tagen indiziert. Hier sind bei Affektion des Gastrointestinaltraktes nicht resorbierbare Steroide, monoklonale Antikörper (Anti-IL2-Rezeptor-Antikörper, Anti-TNF-Antikörper etc.) von Nutzen. Weiterhin kommen die extrakorporale Photopherese (ECP) zur Anwendung, die über eine Suppression der T-Zellaktivität und einer vermeintlichen Induktion von regulatorischen T-Zellen eine Effektivität anzuzeigen scheint [Greinix et al. 2006]. Pentostatin (Inhibitor der Adenosindeaminase) und auch mesenchymale Stammzellen werden ebenfalls von einigen Zentren eingesetzt [Schmitt et al. 2011, Parody und Sureda 2016]. Bei allen sekundärtherapeutischen Optionen fehlen größere prospektive randomisierte Studien, die eine bessere Zuordnung auch auf die organspezifischen GvHD-Formen begründen und die grundsätzliche Effektivität eingesetzter Medikamente oder Methoden absichern könnten.

2.1.6 Klinische Manifestation und Klassifikation der chronischen GvHD

Die häufigste Ursache der späten Morbidität mit circa 50% und der nicht durch ein Rezidiv der Grundkrankheit verursachenden Mortalität mit etwa 25% der transplantierten Patienten ist die chronische GvHD [Akpek et al. 2001, Lee et al. 2003]. Klinisch ist die cGvHD ein Mischbild einer Autoimmunerkrankung mit Charakteristika ähnlich einer Sklerodermie, dem Sjögensyndrom, einer biliären Leberzirrhose, der Bronchiolitis obliterans, einer Immunzytopenie und einer chronischen Immundefizienz. Allerdings kann die cGvHD nur in einem Organ oder Gewebe isoliert verbleiben, aber auch umfassend sämtliche immunologischen Zielorgane umfassen. Extreme Krankheitsbilder mit Gelenkversteifungen bei generalisierter Sklerodermie und irreversiblen Lungenarteriellerkrankungen führen so bei schwerer chronischer GvHD zu Überlebensraten von nur 10 - 30%. Zeichen und Symptome wurden übersichtlich durch die

NIH Working Group dargestellt [Filipovic et al. 2005]. Symptome der cGvHD können sich bis zu drei Jahren nach Transplantation zeigen. Zumeist ist die akute GvHD den Formen der chronischen GvHD vorausgegangen, die sogenannte de novo chronische GvHD wird nur bei rund 5% bis 10% der Patienten mit chronischer GvHD beobachtet [Pérez-Simón et al. 2008].

2.1.7 Prävention und Therapie der chronischen GvHD

Als Präventionsintervention konnte zunächst im Rahmen einer prospektiven Studie für die cGvHD eine zweijährige Gabe von CsA anzeigen, dass die Rate der schweren extensiven GvHD vermindert wird. Eine signifikante Reduktion oder gar einen Überlebensvorteil hat aber die längere Gabe der prophylaktischen Immunsuppression gegenüber dem halbjährigem Prophylaxe-Standard mit Cyclosporin A nicht zeigen können [Kansu et al. 2001]. Als Standard in der Prävention einer akuten und chronischen GvHD gilt der Einsatz von Antithymozytenglobulin zur in-vivo-T-Zell-Depletion unmittelbar vor allogener unverwandter HSZT neben dem Einsatz des Calcineurininhibitors Cyclosporin A und Methotrexat. Hier konnte gezeigt werden, dass die kumulative 2-Jahresinzidenz der extensiven cGvHD mit 12,2% unter Einsatz von ATG im Vergleich zur CNI-basierten GvHD-Prophylaxe mit 42,6% signifikant ($p < 0,0001$) reduziert wird [Finke et al. 2009]. Risikofaktoren für die cGvHD sind neben dem Auftreten der akuten GvHD, ein höheres Patientenalter, eine weibliche Spenderin für männlichen Patienten, ein unverwandter Stammzellspender, die Gabe von Spenderlymphozyten (Donor lymphocyte infusion, DLI) und in den letzten Jahren deutlicher geworden die Anwendung von peripheren Blutstammzellen gegenüber Knochenmark als Quelle der verwendeten hämatopoetischen Stammzellen [Anasetti et al. 2012]. Standardtherapie der cGvHD ist die Kombination von CsA und Prednisolon, wobei aber die meisten Patienten durch die aGvHD bereits mit mindestens einer dieser Substanzen behandelt wurden [Wolff et al. 2011]. Die Therapiedauer ist zumeist monatelang und führt zu signifikanten Nebenwirkungen insbesondere unter dem Medikament Prednisolon.

2.2 Everolimus (RAD001; Certican®)

2.2.1 Wirkmechanismus von Everolimus

Everolimus ist ein Proliferationshemmer mit Makrolidstruktur und aufgrund einer 2-Hydroxyethyl-Gruppe als Derivat vom immunsuppressiv wirkenden Rapamycin abstammend (auch als RAD001 bezeichnet), welches vom *Streptomyces hygroscopicus* gebildet wird, Abbildung 2.

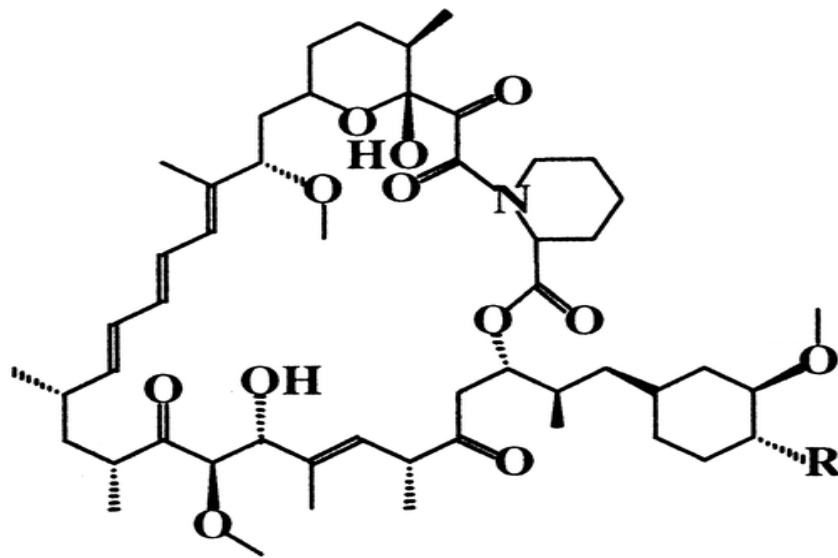


Abbildung 2: Everolimus-Molekül [Kuhn et al. 2001]

Everolimus bildet einen Komplex mit dem intrazellulärem FK-Bindungsprotein 12 (Abk.: FKBP 12) und inhibiert die Serin-Threonin-Kinase mTOR (mechanistic Target of Rapamycin, früher genannt: mammalian Target of Rapamycin), wodurch die Phosphorylierung der p70S6-Kinase nicht folgt sowie das elongation-factor-4E-bindende Protein (4E-BP1) inhibiert wird. Deshalb wird Everolimus neben dem als Stoffgruppenpräparat eingeführten Sirolimus (Rapamune®) als mTOR-Inhibitor bezeichnet. M-TOR-Inhibitoren entfalten ihre Wirkung im Vergleich zu den Calcineurininhibitoren erst in einem späteren Stadium des Interleukin-2 vermittelten Signaltransduktionsweges und lassen somit den T-Lymphozyt in der G1-Pase verharren, Abbildung 3 [Hentges et al. 2001, Chapman et al. 2004]. Weiterhin hemmt Everolimus die Proliferation glatter Muskelzellen und Endothelzellen, welche Faktoren darstellen, die eine Rolle bei der chronischen Transplantatabstoßung spielen.

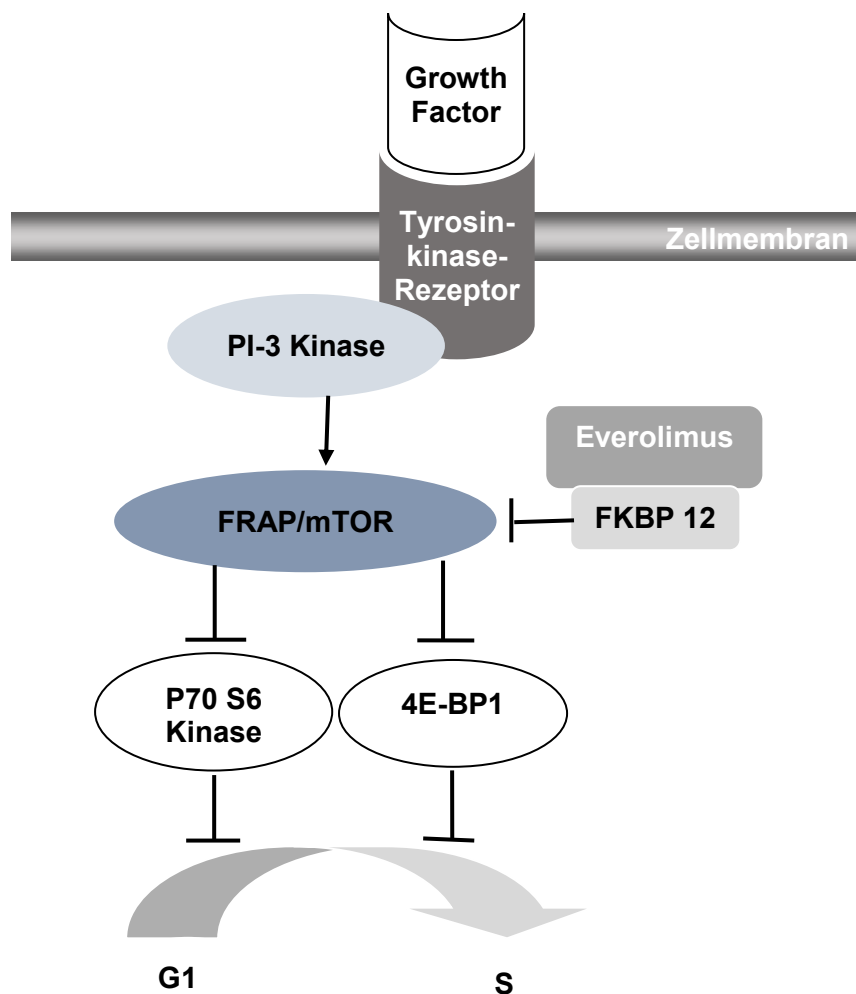


Abbildung 3: Molekularer Wirkmechanismus von Everolimus
 [nach Nashan 2011]

Legende: Phosphoinositid-3-Kinase (PI-3-Kinase), FKBP-12-Rapamycin assoziiertes Protein (FRAP), mechanistic Target of Rapamycin (mTOR), FK-Bindungsprotein 12 (FKBP 12), Ribosomales Protein S6 Kinase beta 1 (S6K1 = P70 S6), Eukaryotischen Initiationfaktor 4E Bindungsprotein-1 (4E-BP1), Interphase (G1), Interphase (S)

2.2.2 Pharmakokinetik

Im Vergleich zu Rapamycin hat Everolimus eine kürzere Halbwertszeit von 23 zu 60 Stunden und das steady-state-Gleichgewicht wird durchschnittlich um 48 Stunden schneller innerhalb von vier Tagen erreicht [Kahan et al. 1999, Koch 2009]. Die Metabolisierung erfolgt über das CYP3A4-Enzymsystem [Kovarik et al. 2001]. Bei Leberfunktionsstörungen muss eine Dosisanpassung vorgenommen werden [Kovarik et al. 2001a]. Ein Vorteil insbesondere nach

einer Nierentransplantation besteht darin, dass keine Dosisanpassung bei renaler Dysfunktion erforderlich ist. Der Talspiegel korreliert mit der Exposition. Ein therapeutisches Monitoring ist nicht nur beispielsweise bei Leberfunktionsstörungen sinnvoll und notwendig, sondern auch bei gleichzeitiger Einnahme anderer Medikamente, die ebenso über das Isoenzym CYP3A4 verstoffwechselt werden, beispielsweise Cyclosporin A [Kahan et al. 1999, Neumayer et al. 1999, Kirchner et al. 2000].

2.2.3 Indikationen

Everolimus (RAD001) ist ein Immunsuppressivum welches in der Nieren- und Herztransplantation Anfang 2004 zugelassen und im März 2004 in Deutschland eingeführt wurde. Es ist unter dem Medikamentennamen Certican® (Novartis Pharma) bekannt. Das Indikationsgebiet liegt in der Prophylaxe der Transplantatabstoßung nach allogener Nieren- oder Herztransplantation bei erwachsenen Patienten mit einem geringen bis mittelgradigen immunologischen Risiko. In dieser Anwendung ist Everolimus nur mit Cyclosporin A und Kortikoiden zugelassen. Zudem erhielt Everolimus (Certican®) am 31.10.2012 die Zulassung zur Prophylaxe der Transplantatabstoßung nach Lebertransplantation basierend auf Datenergebnissen der Studie H2304, wo die Substanz in Kombination mit Tacrolimus und Kortikosteroiden eingesetzt wurde [Fischer et al. 2013].

2.2.4 Nebenwirkungen

Das Nebenwirkungsspektrum der mTOR-Inhibitoren in der Anwendung zur Prophylaxe einer Transplantatabstoßung sowie in der Prophylaxe und Therapie einer GvHD bezieht sich überwiegend auf die kombinierte Anwendung mit Calcineurininhibitoren, Kortikosteroiden oder Basiliximab. Insbesondere werden ein dosisabhängiges Risiko für Infektionen, Interaktionen mit Substanzen, die das CYP3A4-Enzymsystem induzieren oder inhibieren und das Auftreten von sekundären kombinierten Hyperlipidämien und Angiödem beschrieben [Eisen et al. 2003, Vitko et al. 2004, Jedlickova et al. 2011]. Zu beachten ist, dass eine vorbestehende Proteinurie durch Everolimus verstärkt werden kann [Morales et al. 2007, Keller et al. 2012]. Des Weiteren sind das Auftreten von arteriellen und venösen Thromboembolien [Jedlickova et al.

2011, Baas et al. 2013] und von thrombotischen Mikroangiopathien und einem sinusidalen Obstruktions-syndrom der Leber, auch in kombinierter Anwendung mit Calcineurininhibitoren als GvHD-Prophylaxe nach allogener HSZT beobachtet worden [Cutler et al. 2005, Johnston et al. 2005, Platzbecker et al. 2009]. Der kombinierte Einsatz von Calcineurininhibitoren und mTOR-Inhibitoren scheint ein Risikofaktor für das Auftreten einer TMA zu sein [Yilmaz et al. 2011, Reig Mezquida et al. 2015]. Eine neuere Arbeit konnte zeigen, dass die Inzidenz der TMA bei kombinierten Einsatz von Cyclosporin A und Everolimus mit hohen Wirkstofftalspiegeln assoziiert ist [Nava et al. 2014.] Beachtenswert sind auch die toxischen Effekte auf die Hämatopoese (Leukopenie, Thrombozytopenie, Anämie) und Wundheilungsstörungen [Webster et al. 2006, Levy et al. 2006, Masetti et al. 2008, Nashan und Citterio 2012]. Seltene schwere unerwünschte Arzneimittelwirkungen sind außerdem die interstitielle Pneumonie respektive Pneumonitis, Pleura- und Perikardergüsse [Bouzas-Mosquera et al. 2008, Rodríguez-Moreno et al. 2009].

3 Ziele der Arbeit

Die steroidresistente und fortgeschrittene chronische GvHD stellt eine große Herausforderung in der weiterführenden Behandlung dar und fordert die Entwicklung neuer Therapieansätze und deren Evaluierung. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, in einer sorgfältigen retrospektiven klinischen und paraklinischen Analyse die Wirksamkeit und die Sicherheit einer zumeist additiven Everolimusmedikation bei Patienten mit moderater oder schwerer chronischer GvHD zu prüfen.

Primär sollen folgende Fragen beantwortet werden:

1. Wie ist - neben dem Überleben der behandelten Patienten - das allgemeine Therapieansprechen, „Overall Response“ genannt, mit der Behandlung von Everolimus bei fortgeschrittener chronischer GvHD bezogen auf den Gesamtschweregrad?
2. Welche organbezogenen Schweregradverbesserungen konnten unter Berücksichtigung der cGvHD-Konsensuskriterien des NIH erreicht werden?
3. In welchem Umfang konnte ein klinisches Ansprechen der chronischen GvHD unter der Behandlung mit Everolimus und eine Reduktion oder Beendigung der eingesetzten immunsuppressiven Ko-Medikamente Prednisolon und/oder Mycophenolat und/oder der extrakorporalen Photopherese erreicht werden?
4. Welchen Einfluss hat die Everolimustherapie auf die lymphozytären Subpopulationen unter Berücksichtigung des allgemeinen Ansprechens und der eingesetzten Ko-Immunsuppressiva Prednisolon und/oder Mycophenolat und/oder der extrakorporalen Photopherese?
5. In welchem Ausmaß traten Infektionen mit Everolimus bei Patienten mit einer fortgeschrittenen chronischen GvHD auf?
6. Welche Aussagen zur Verträglichkeit der Everolimustherapie bezüglich des Nebenwirkungsprofils beziehungsweise des Auftretens von therapieassoziierten Komplikationen können gemacht werden?

4 Patienten und Methoden

4.1 Studiendesign

Es handelt sich hier um eine retrospektive, monozentrische Studie, deren primäres Ziel darin bestand, die Wirksamkeit von Everolimus in der kombinierten immunsuppressiven Therapie der chronischen GvHD zu untersuchen. Dazu wurde der organbezogene Schweregrad und Gesamtschweregrad der GvHD ermittelt und deren Verlauf unter der neuen Therapie analysiert. Außerdem sollte das Therapieansprechen nach Subgruppen einzeln beobachtet werden. Als weitere Studienziele wurden festgelegt: Verträglichkeit und Wirksamkeit von Everolimus, therapieassoziierte Komplikationen innerhalb des Beobachtungszeitraumes wie die CMV-Reaktivierung, die thrombotische Mikroangiopathie (TMA), die Rezidivrate und das Gesamtüberleben im Beobachtungszeitraum. Außerdem sollten das Therapieansprechen nach einzelnen Subgruppen und das Verhalten von Lymphozytensubpopulationen und von Immunglobulinen unter Everolimus bewertet werden. Die Ethik-Kommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena hatte der retrospektiven Datenanalyse am 02.05.2012 (Nr. 3443-05/12) zugestimmt.

4.2 Patienten

In der vorliegenden Studie wurden insgesamt 38 Patienten eingeschlossen, die innerhalb des Zeitraumes Juni 2006 bis Juni 2010 eine Therapie mit Everolimus bei einer chronischen Graft-versus-Host-Erkrankung erhielten. Dreizehn (34,2%) Patienten waren weiblich und 25 (65,8%) Patienten männlich. Das durchschnittliche Patientenalter bei Transplantation lag bei 45,3 Jahren und die Altersspanne reichte von 25,0 Jahren bis 61,0 Jahren. Das Alter zu Beginn der Therapie mit Everolimus lag im Median bei 47,9 Jahren und die Altersspanne reichte von 28,9 bis 65,6 Jahren.

4.2.1 Patientencharakteristika

Die Diagnosen, die eine allogene HSZT indizierten, bestanden in 25 Fällen (65,8%) aus akuten Leukämien (AML, sAML aus MDS oder CMML, tAML nach indolentem Lymphom Stadium IV, ALL, NK-Zell-Leukämie) und in 8 Fällen (21,1%) aus Non-Hodgkin-Lymphomen (B-CLL, DLBCL, FL, T-NHL), in 5 Fällen

(13,1%) aus chronisch myeloproliferativen Neoplasien (CML, CMML). Als Remission wurden alle akuten Leukämien in erster kompletter Remission und alle chronischen myeloischen Leukämie in chronischer Phase definiert. Alle anderen Krankheitsstadien wurden als fortgeschrittene Stadien gewertet. Die Patientencharakteristika sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Patientencharakteristika

	Patientenanzahl [n]	Prozent [%]
Medianes Alter zum Zeitpunkt der HSZT (Bereich)	45,3 Jahre (25,0 – 61,0)	
Medianes Alter mit Beginn der Everolimus-Therapie (Bereich)	47,9 Jahre (28,9 – 65,6)	
Geschlecht des Patienten		
männlich	25	65,8
weiblich	13	34,2
Indikation zur HSZT		
AML	16	42,1
sAML aus MDS	2	5,3
sAML aus CMML	1	2,6
tAML nach indolentem Lymphom Stadium IV	1	2,6
ALL	4	10,5
NK-Zell-Leukämie	1	2,6
CML	4	10,5
CMML	1	2,6
NHL	4	10,5
CLL	4	10,5
Remissionsstatus vor HSZT		
Erste komplette Remission/ chronische Phase	16	42,1
Fortgeschrittenes Krankheitsstadium	22	57,9

Legende: Akute lymphphatische Leukämie (ALL), Akute myeloische Leukämie (AML), Chronische lymphatische Leukämie (CLL), Chronische myeloische Leukämie (CML), Chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML), Hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT), Myelodysplastisches Syndrom (MDS), Non-Hodgkin-Lymphom (NHL), Natürliche-Killer-Zell-Leukämie (NK-Zell-Leukämie), sekundäre akute myeloische Leukämie (sAML), therapieassoziierte akute myeloische Leukämie (tAML)

4.2.2 Merkmale zur allogenen Blutstammzelltransplantation

Bezogen auf die Spender-Empfänger-Konstellation wurden folgende Risikofaktoren für die Entstehung einer akuten als auch chronischen Graft-versus-

Host-Erkrankung dokumentiert: die HLA-Kompatibilität, die hämatopoetische Stammzellquelle sowie das Geschlechterverhältnis. Ein voll gewebe-verträglicher verwandter als auch nicht verwandter Spender (HLA-kompatibel) lag vor, wenn eine Identität mit dem Patienten in den transplantations-relevanten HLA-Antigenen der Klasse I (A, B, C) sowie der HLA-Antigene der Klasse II (DR und DQ) in einer molekularbiologischen HLA-Bestimmungs-technik nachgewiesen wurde. Zudem wurden die AB0-Kompatibilität beschrieben und der Cytomegalievirus-IgG-Status, der insbesondere unter einer GvHD und einer notwendigen immunsuppressiven Therapie ein zusätzlicher Risikofaktor für eine CMV-Reaktivierung und/oder CMV-Erkrankung darstellt. Die Tabelle 2 stellt die Einzelheiten zu den genannten Merkmalen dar.

Tabelle 2: Merkmale zur allogenen Blutstammzelltransplantation

	Patientenanzahl [n]	Prozent [%]
HLA-Kompatibilität		
HLA-matched verwandt 10/10	6	15,7
HLA-matched unverwandt 10/10	19	50,0
HLA-1-Antigen mismatched unverwandt	11	28,9
HLA-2-Antigen mismatched unverwandt	2	5,3
Hämatopoetische Stammzellquelle		
Knochenmark	1	2,6
Peripheres Blut	37	97,4
Spender-Empfänger-Verhältnis		
männlich - männlich	19	50,0
männlich - weiblich	8	21,1
weiblich - weiblich	5	13,1
weiblich – männlich	6	15,8
AB0-Kompatibilität		
AB0-ident	16	42,1
AB0-minor	11	28,9
AB0-major	9	23,7
AB0-bidirektional	2	5,3
CMV-IgG-Status Empfänger/Spender		
<i>positiv/ positiv</i>	14	36,8
<i>positiv/ negativ</i>	6	15,8
<i>negativ/ positiv</i>	8	21,1
<i>negativ/ negativ</i>	10	26,3

Legende: Cytomegalievirus (CMV), Humanes Leukozytenantigen (HLA), Immunglobulin G (IgG)

4.2.3 Konditionierung

Die Konditionierung vor der allogenen Stammzelltransplantation hat einen antileukämischen, einen myeloablativen sowie einen immunsuppressiven Effekt. Je nach Art der Erkrankung und der Risikosituation ist das entsprechende Konditionierungsregime gewählt wurden. In Tabelle 3 sind die myeloablativen Standardkonditionierungsregime, die 27 Patienten (71,1%) erhielten, und in Tabelle 4 die dosisreduzierten Konditionierungen mit 11 Patienten (28,9%) dargestellt. Die Ganzkörperbestrahlung (TBI) wurde in der Klinik für Strahlentherapie des Universitätsklinikums Jena durchgeführt. Die Ganzkörperbestrahlung erfolgte immer fraktioniert mit einer Einzeldosis von 2 Gy. Bei einer Gesamtdosis von 12 Gy erfolgte ein „lung shielding“ durch eine individuelle Bleiabschirmung auf eine lokale Organdosis von 8 Gy.

Tabelle 3: Standardkonditionierungsregime

Standard-Regime mit eingesetzter Dosierung	Patientenanzahl [n]	Prozent [%]
gesamt:	27/38	71,1
TBI 8 - 12 Gray + Cyclophosphamid 120 mg/kg	21	55,3
TBI 8 - 12 Gray + Cyclophosphamid 120 mg/kg + ATG 40 mg/kg	3	7,9
TBI 4 Gray + Fludarabin 120 mg/m ² + Cyclophosphamid 60 mg/kg + ATG 30 mg/kg	1	2,6
Fludarabin 100 mg/m ² + Busulfan 12 mg/kg + Cyclophosphamid 120 mg/kg + ATG 30 mg/kg	1	2,6
Treosulfan 36 g/m ² + Fludarabin 150 mg/m ² (ohne ATG 60 mg/kg bei verwandter HSZT)	1	2,6

Legende: Antithymozytenglobulin (ATG), Hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT), Total Body Irradiation (TBI)

Tabelle 4: Dosisreduzierte Konditionierungen

Dosisreduzierte Regime mit eingesetzter Dosierung	Patientenanzahl [n]	Prozent [%]
gesamt:	11/38	28,9
TBI 2 Gray + Fludarabin 90 mg/m ²	2	5,3
Fludarabin 180 mg/m ² + Busulfan 8 mg/kg + ATG 40 mg/kg	9	23,6

Legende: Antithymozytenglobulin (ATG), Total Body Irradiation (TBI)

In den aufgeführten Konditionierungsregimen ist die Gabe von Anti-thymozytenglobulin (ATG), welches zur in-vivo-T-Zelldepletion als akute GvHD-Prophylaxe eingesetzt wird, bereits aufgeführt. Weitere Angaben zur akuten GvHD-Prophylaxe finden sich unter Punkt 4.2.5.

4.2.4 Transplantation

Eine allogene periphere Blutstammzelltransplantation (PBSZT) erhielten 37 Patienten und ein Patient eine allogene Knochenmarktransplantation (KMT). Bei einer der allogenen PBSZT, die nicht in der Klinik für Innere Medizin II erfolgte, konnte anhand der vorliegenden Aktenlage keine Angabe zur transplantierten CD34+Zellzahl erhoben werden. In Tabelle 5 sind die mediane Zellzahl der transplantierten peripheren CD34+Blutstammzellen sowie die CD34+Zahl zum Knochenmark dargestellt.

Tabelle 5: Transplantierte hämatopoetische Stammzellzahl

	PBSZ	KM
Patientenanzahl [n]	n=36	n=1
Median Zellzahl CD34+ x 10 ⁶ /kg	6,6 (3,0 - 17,0)	
Körpergewicht (Bereich)		
Zellzahl CD34+ x 10 ⁶ /kg		1,1
Körpergewicht		

Legende: Cluster of Differentiation (CD), Knochenmark (KM), periphere Blutstammzellen (PBSZ)

4.2.5 GvHD-Prophylaxe

Innerhalb des unter Punkt 4.2.3 angegebenen Konditionierungsregime wurden bereits Angaben zur Verwendung von ATG gemacht. Insgesamt erhielten 14

Patienten (36,8%) ATG. Als primäre GvHD-Prophylaxe wurden die Calcineurininhibitoren Cyclosporin A (CsA, n=37, 97,4%) und Tacrolimus (FK506, n=1, 2,6%) eingesetzt. Teilweise wurde CsA mit Methotrexat (MTX, n=21, 55,3%) und/oder Mycophenolat (MMF, n=20, 52,6%) kombiniert. Tabelle 6 zeigt die Kombinationen der primären GvHD-Prophylaxe.

Tabelle 6: Primäre GvHD-Prophylaxe

Medikamentenkombination	Patientenanzahl [n]	Prozent [%]
CsA + MMF	3	7,9
CsA + MTX	11	28,9
CsA + MTX + MMF	10	26,3
ATG + CsA	7	18,4
ATG + CsA + MMF	6	15,8
ATG + FK506 + MMF	1	2,6

Legende: Antithymozytenglobulin (ATG), Cyclosporin A (CsA), Tacrolimus (FK506), Mycophenolat (MMF), Methotrexat (MTX)

Nach allogener HSZT wurde bei 6 Patienten (15,8%) die Indikation zu einer Umstellung der GvHD-Prophylaxe gestellt, Tabelle 7. Davon erhielten 2 Patienten FK506 mono und 4 Patienten die Kombination FK506 + MMF.

Tabelle 7: Indikationen zur Umstellung auf eine sekundäre GvHD-Prophylaxe

UPN	Immunsuppressionswechsel	Indikation	Zeitpunkt nach HSZT
445	CsA → FK506	Nephrotoxizität	Tag +35
487	CsA + MMF → FK506 + MMF	TMA	Tag +52
488	CsA + MMF → FK506 + MMF	TMA	Tag +30
507	CsA + MMF → FK506 + MMF	Cephalgien	Tag + 5
538	CsA → FK506	TMA	Tag +107
556	CsA + MMF → FK506 + MMF	Hyperbilirubinämie	Tag +18

Legende: Cyclosporin A (CsA), Tacrolimus (FK506), Mycophenolat (MMF), thrombozytopenische Mikroangiopathie (TMA), Unique Patient Number = eindeutige Patienten-Nummer (UPN), hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT)

4.2.6 Hämatopoetische Rekonstitution

Die Rekonstitution der Neutrophilen > 500/µl, sogenannte Neutrophilen-Take, lag bei den 37 Patienten mit PBSZT im Median am Tag +13 (Bereich: 9 – 25)

und bei einem Patienten mit KMT (UPN 384) am Tag +17. Die Rekonstitution der Thrombozyten $> 20.000/\mu\text{l}$, sogenannte thrombozytärer Take, lag bei 36 Patienten mit PBSZT im Median am Tag +15 (Bereich 10 - 45). Ein Patient mit PBSZT (UPN 437) erreichte zu keinem Zeitpunkt der Beobachtung einen thrombozytären Take. Bei dem Patienten mit KMT (UPN 384) waren ab Tag +26 die Thrombozyten stabil bei $> 20.000/\mu\text{l}$.

4.2.7 Wachstumsfaktorengabe und Engraftmentsyndrom

Bei den durchgeführten allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantationen zwischen 04/1998 und 12/2007, gesamter Zeitraum der HSZT 04/1998 bis 04/2008, erhielten 29 Patienten (76,3%) den Granulozyten-Kolonie-stimulierenden Faktor (G-CSF) Filgrastim. Ein Engraftmentsyndrom trat bei 14 Patienten (36,8%) ein, wovon 12 Patienten G-CSF erhielten. Allerdings wurde kein signifikanter Einfluss von G-CSF auf das Auftreten eines Engraftmentsyndroms gesehen ($p=0,26$). Ebenso wurde kein Unterschied in der Häufigkeit der aGvHD aller Schweregrade bei Patienten mit oder ohne Engraftmentsyndrom gesehen (13 von 14 versus 22 von 24, $p=0,69$).

4.2.8 Auftreten der akuten GvHD

Unter Berücksichtigung der Definitionen klassische akute GvHD und späte akute GvHD trat die aGvHD im Median am Tag +29 (Bereich: 12 - 82) bei 35 Patienten der Studienpopulation auf. Zunächst werden die akuten GvHD-Inzidenzen nach dem Glucksberg-Gesamtschweregrad dargestellt, da diese im vorliegenden Patientendokumentationssystem der Klinik für Innere Medizin II des UKJ benutzt wurde [Glucksberg et al. 1974]. Die Verteilung stellt sich wie folgt dar: bei 7,9% der Patienten lag keine akute GvHD ($n=3$) vor, bei 15,8% ein Gesamtschweregrad I ($n=6$), bei 42,1% ein Gesamtschweregrad II ($n=16$), bei 28,9% ein Gesamtschweregrad III ($n=11$) und bei 5,3% ein Gesamtschweregrad IV ($n=2$), Abbildung 4.

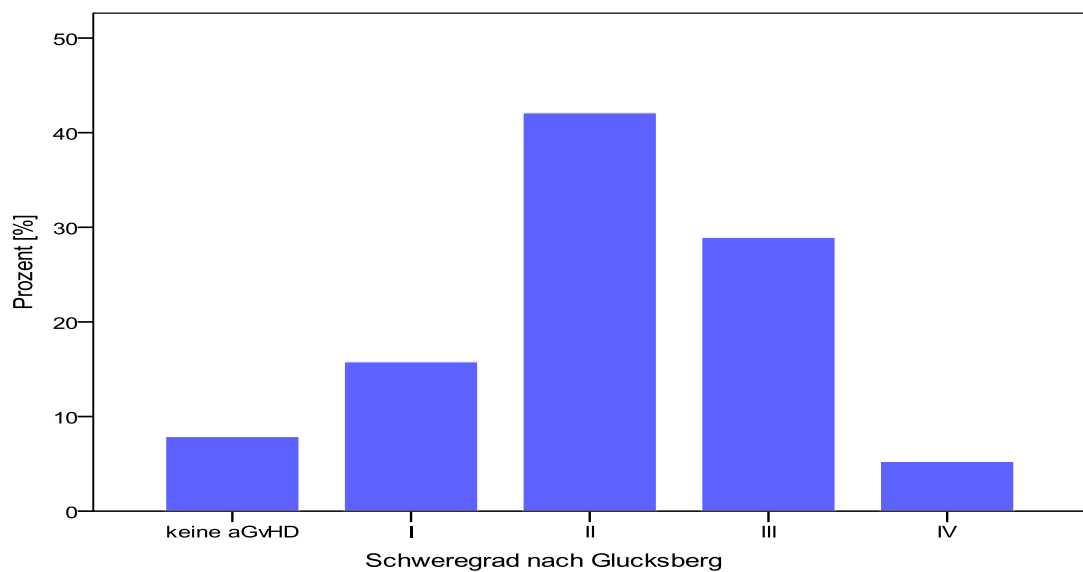


Abbildung 4: aGvHD-Schweregrad nach Glucksberg-Kriterien

Legende: akute Graft-verus-Host Erkrankung (aGvHD)

Die Abbildung 5 zeigt die kumulative Inzidenz der klinisch relevanten aGvHD nach den Glucksberg-Kriterien innerhalb der ersten 100 Tage, 72,9% aGvHD II, III und IV und 33,9% aGvHD III und IV.

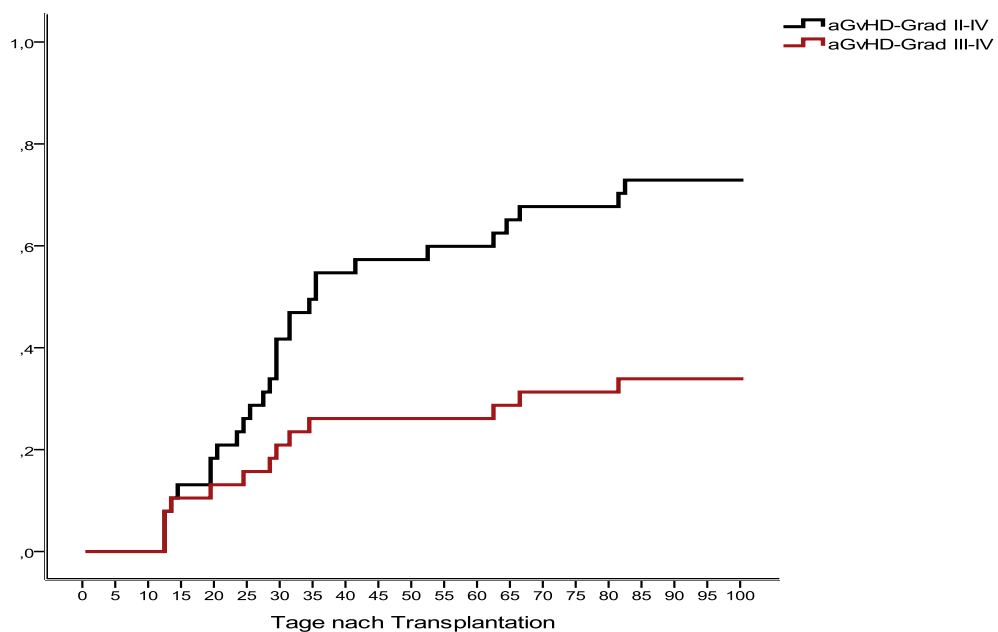


Abbildung 5: Kumulative Inzidenz der aGvHD nach Glucksberg

Legende: akute Graft-verus-Host-Erkrankung (aGvHD)

Retrospektiv wurde anhand der organspezifischen Schweregradeinteilung von Haut, Leber und Darm die aGvHD-Inzidenz nach der Konsensuskonferenz aGvHD 1994 reklassifiziert [Przepiorka et al. 1995]. Ein Schweregrad IV trat nicht auf. Neun Patienten (23,7%) hatten einen Schweregrad I, 15 Patienten (39,5%) einen Schweregrad II und 11 Patienten (28,9%) einen Schweregrad III, Abbildung 6.

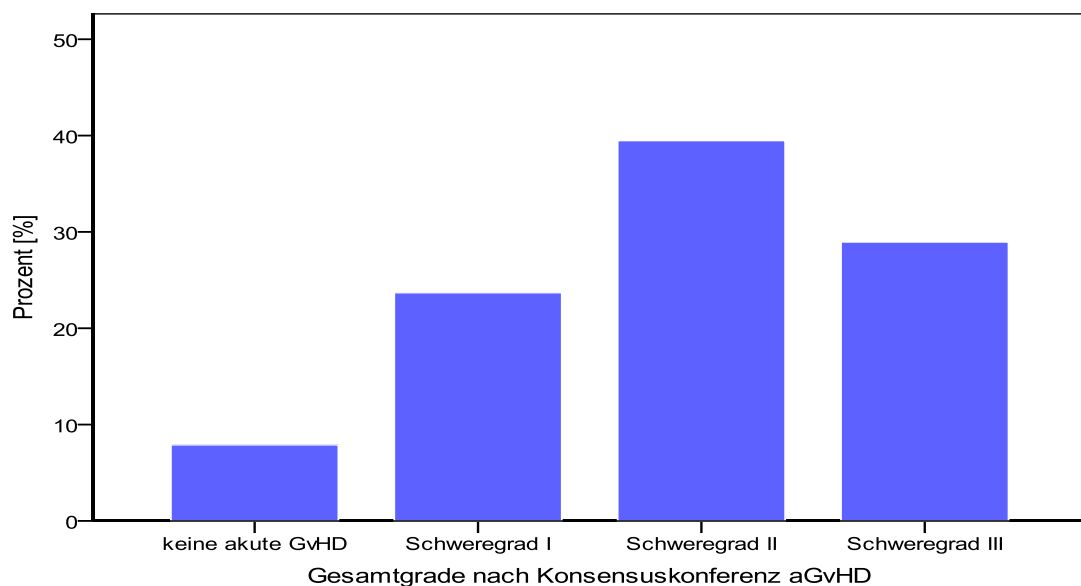


Abbildung 6: aGvHD-Schweregrad nach Konsensus aGvHD 1994

Legende: akute Graft-versus-Host-Erkrankung (aGvHD)

Außerdem erfolgte die Reklassifikation der aGvHD nach dem IBMTR-Schweregrad-Index [Rowlings et al. 1997]. Dabei wiesen ein Schweregrad A 5 Patienten (13,2%), ein Schweregrad B 11 Patienten (28,9%), ein Schweregrad C 18 Patienten (47,4%) und ein Patient (2,6%) ein Schweregrad D auf, Abbildung 7.

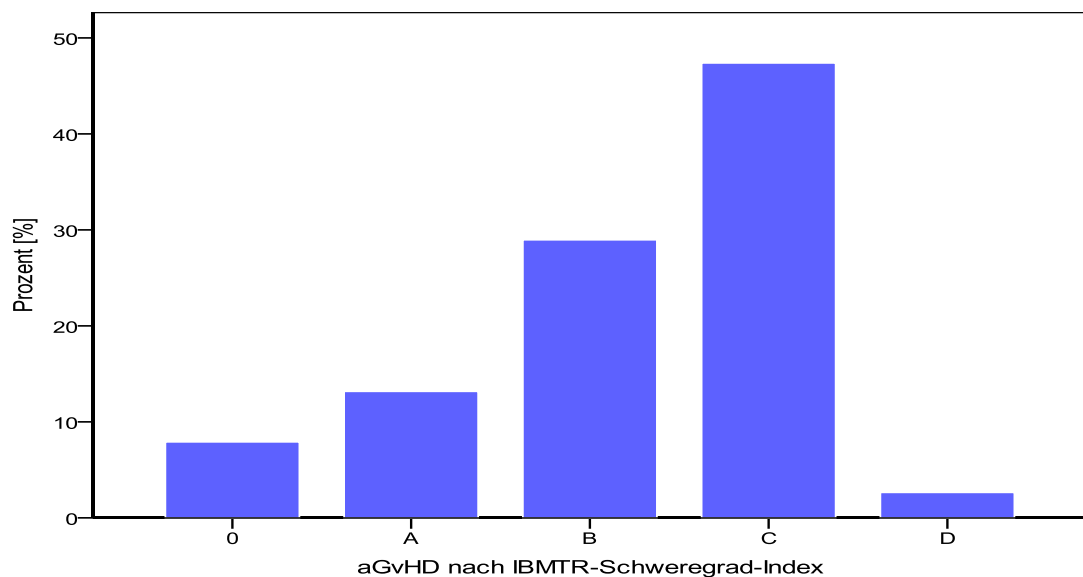


Abbildung 7: IBMTR-Schweregrad-Index für aGvHD

*Legende: IBMTR - Schweregrad 0 = keine Haut-, Darm-, Leber-GvHD,
 IBMTR - Schweregrad A = Haut Stadium 1, Darm / Leber Stadium 0,
 IBMTR - Schweregrad B = Haut Stadium 2, Darm / Leber Stadium 0
 oder
 Haut Stadium 0 - 2, Darm / Leber Stadium 1,
 Haut Stadium 0 - 2, Darm / Leber Stadium 2,
 IBMTR - Schweregrad C = Haut Stadium 3, Darm / Leber Stadium 0-1
 oder
 Haut Stadium 3, Darm / Leber Stadium 2
 oder
 Haut Stadium 0 - 3, Darm / Leber Stadium 3,
 IBMTR - Schweregrad D = Haut jedes Stadium, Darm / Leber Stadium 4,
 International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR),
 akute Graft-verus-Host-Erkrankung (aGvHD)*

4.2.9 Therapie der akuten GvHD

Die Erstlinientherapie der aGvHD war eine systemische Behandlung mit Kortikosteroiden. Von den 35 Patienten (92,1% der Studiengruppe) die eine aGvHD erlitten, erhielten alle 29 Patienten mit einem Gesamtschweregrad \geq II nach Glucksberg Prednisolon. Bei 5 von 6 Patienten mit einem Gesamtschweregrad I wurde auch eine systemische Therapie mit Prednisolon durchgeführt, wobei bei 4 Patienten eine kutane Haut-GvHD II. Grades und bei einem Patienten eine Haut-GvHD I. Grades bestand. Eine steroidbasierte Kombinationstherapie zur Behandlung der aGvHD war bei 6 Patienten notwendig. Dabei kamen zur Behandlung der kutanen aGvHD topisch wirksame Glukokortikoide (n=2) und Mycophenolat (n=1) zur Anwendung. Bei

der akuten Darm-GvHD wurden Infliximab als $\text{TNF}\alpha$ -Antikörper (n=2), Mycophenolat (n=1) und Budenosid (n=1) eingesetzt, Abbildung 8.

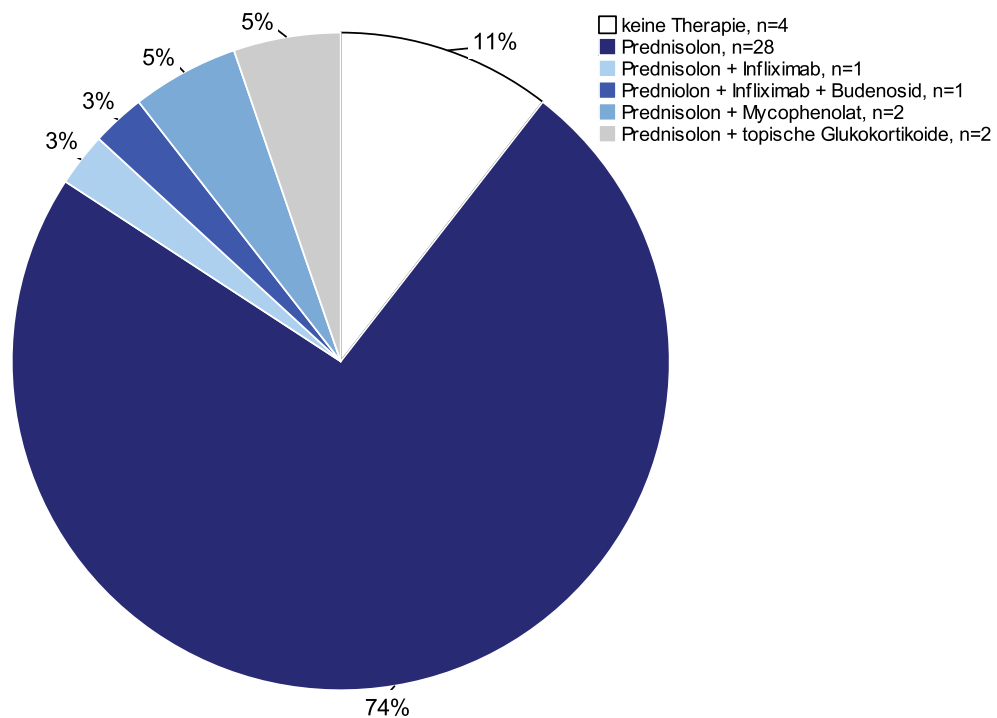


Abbildung 8: Medikamentöse Therapie der aGvHD

Legende: Patientenanzahl (n)

4.3 Methoden

4.3.1 Datenerfassung

Die Datenerhebung erfolgte retrospektiv. Unter Anwendung standardisierter Auswertungsblätter in Form einer elektronischen Datendatei erfolgte die Erhebung der spezifischen Patientendaten bezüglich der Grunderkrankung und ihrer Vortherapie, der transplantationsrelevanten Daten, der hämatopoetischen Rekonstitution, der GvHD-Prophylaxe, der Diagnosestellung (ggf. Biopsie) der akuten GvHD und deren Therapie sowie der Diagnosestellung der chronischen GvHD (ggf. Biopsie) und deren Therapieverlauf, der Indikationsstellung zur Therapie mit Everolimus, der CMV-Reaktivierungen und CMV-Infektionen vor und unter der Behandlung von Everolimus sowie anderer Infektionen, der medikamentösen Interaktionen und spezifischen Therapienebenwirkungen

unter Everolimus, des Dosierungsverhalten der immunsuppressiven Komedikation Prednisolon und/ oder Mycophenolat, der zellulären und humoralen Immunität unter der Everolimusbehandlung, der organspezifischen chronischen GvHD-Stadien (Haut, Mund, Augen, GIT, Leber, Darm, Lunge, Genitaltrakt, Gelenke und Faszien, weitere cGvHD-spezifische Organbeteiligungen) mit dem Verlauf von Laborparametern, einschließlich cGvHD-spezifischen Biomarken, der Lungenfunktionsprüfung, des Schirmertests und des Körpergewichtes, der Risikoklassifikation nach NIH-Konsens. Der Behandlungsverlauf wurde zu bestimmten Zeitpunkten unmittelbar vor Therapiebeginn von Everolimus Tag -5 bis -1 und nachfolgende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45 Behandlungsmonate dokumentiert, ausgenommen die Everolimusspiegelmessung beginnend bereits nach einer Behandlungswoche. Die Gründe zum Abbruch der Everolimusbehandlung wurden erfasst.

4.3.2 Labormedizin und immunologische Analysen

In der Nachsorge der Patienten nach allogener Blutstammzelltransplantation erfolgten in der Stammzelltransplantationsambulanz der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums Jena die Blutentnahmen zur Bestimmung GvHD-relevanter Laborparameter. Die Messungen und Befundmitteilungen sind durch das Institut für Klinischen Chemie und Laboratoriumsdiagnostik des Universitätsklinikums Jena erbracht wurden. Die Parameter wurden zu den in der Datenerhebung festgelegten Zeitpunkten dokumentiert und sind in die Beurteilung des organbezogenen Schweregrades sowie des Gesamtschweregrades eingeflossen: die Eosinophilenzahl und ihr relativer Anteil, die Leukozytenzahl, die Thrombozytenzahl, das Gesamtbilirubin, Aspartat-Transaminase, Alanin-Transaminase, alkalische Phosphatase, Gamma-Glutamyl-Transaminase, Triglyzeride, Cholesterin. Die Dokumentation von GvHD-spezifischen Biomarkern vor und während der Everolimustherapie wurden protokolliert: antimitochondriale Antikörper (AMA), antinukleäre Antikörper (ANA), Rheumafaktor (RF), Anti-smooth-muscle-Antibody (ASMA), von Willebrand-Faktor: Ristocetin-Cofaktor, Myoglobin, Coombs-Antikörper, Anti-cardiolipin Antikörper (ACA), Antineutrophile Antikörper (ANCA). Ebenso wurden die Befunde des Immunstatus mit der Lymphozytenzahl, der CD4-T-

Zellzahl, CD8-T-Zellzahl, der CD4/CD8-Ratio, der CD19-B-Zellzahl, CD56-NK-Zellzahl und die Immunglobuline IgA, IgG, IgM zu den oben angegebenen Zeitpunkten dokumentiert.

4.3.3 Einschlusskriterien

Patienten, die zur Aufnahme in die retrospektive Datenerhebung eingeschlossen wurden, mussten alle im Folgenden aufgeführten Einschlusskriterien erfüllen:

- erwachsene Patienten ≥ 18 Jahre,
- Vorliegen einer therapiebedürftigen chronischen GvHD entsprechend der NIH-Kriterien klassische cGvHD oder „Overlap-Syndrom“ ,
- Vorliegen einer steroidresistenten cGvHD,
- keine gleichzeitige Therapie mit Calcineurininhibitoren.

4.3.4 Ausschlusskriterien

Patienten, auf die mindestens eines der nachfolgend genannten Kriterien zutraf, wurden aus Datenanalyse ausgeschlossen:

- Everolimus zur GvHD-Prophylaxe ohne Nachweis einer cGvHD,
- spät-persistierende oder rezidivierende aGvHD ohne Hinweis auf eine cGvHD,
- gleichzeitige Einnahme von Calcineurininhibitoren wie Cyclosporin A und Tacrolimus,
- Behandlungszeitraum mit Everolimus ≤ 14 Tage.

4.3.5 Historische Klassifikation der chronischen GvHD

Basierend auf einer kleinen retrospektiven Studie wurde ursprünglich die chronische GvHD ab dem Tag +100 nach allogener Transplantation entsprechend ihres Ausdehnungsgrades an den Zielorganen in eine limitierte und eine extensive Form eingeteilt, Tabelle 8 [Shulmann et al. 1980].

Tabelle 8: Historische Klassifikation der cGvHD

Stadien	Zielorgane
limitierte Form	lokalisierte Hautbeteiligung oder Schleimhautbeteiligung ± leichte Leberbeteiligung
extensive Form	generalisierende Hautbeteiligung - <i>oder</i> - lokalisierte Hautbeteiligung - und/oder – hepatische Dysfunktion ± Beteiligung weiterer Organe.

4.3.6 Reklassifikation nach den Konsensuskriterien der NIH

In der jüngeren Zeit wurde zur besseren Beurteilung der cGvHD ein neues Graduierungssystem im Rahmen eines Konsensusprozess der National Institute of Health (NIH) - Arbeitsgruppe etabliert, Tabelle 9 [Filipovich et al. 2005]. Dieses ermöglicht eine systematische Erfassung der organspezifischen Symptome und paraklinischen Befunde sowie der Risikofaktoren für eine cGvHD. Aus den Schweregraden der einzelnen Organmanifestationen wird der Gesamtgrad als milde, moderate oder schwere cGvHD ermittelt. Das Scoringsystem ist nicht nur für die Diagnosestellung bedeutsam, sondern für die Beurteilung des Ansprechens einer cGvHD-Therapie. Retrospektiv wurde anhand der schriftlichen Dokumentation in den Patientenakten eine Reklassifikation der cGvHD nach den Konsensuskriterien des NIH durchgeführt, um das organspezifische Ansprechen als auch das Gesamtansprechen der Everolimustherapie genauer beschreiben zu können.

Tabelle 9: Schweregradeinteilung der cGvHD [nach Filipovich et al. 2005]

Schweregrad	Mild	Moderat	Schwer
Zahl der betroffenen Organsysteme	1-2	> 2	> 2
Schwere der Organmanifestationen	mild (außer Lunge)	mild-moderat (Lunge nur mild)	schwer (Lunge moderat oder schwer)

4.3.7 Definition des Therapieansprechens

In dieser Arbeit wurde das Therapieansprechen nach Berücksichtigung der NIH-Kriterien zur cGvHD folgendermaßen definiert:

- **CR (komplette Remission, komplettes Ansprechen)**
als komplette Rückbildung aller reversiblen Organmanifestationen, organbezogener Schweregrad 0 und Gesamtschweregrad der cGvHD 0, keine Dosiserhöhung von Prednisolon (maximal innerhalb der Steroidäquivalenzdosis von 7,5 mg TD), keine Dosiserhöhung von MMF und keine Intensivierung der ECP während der gesamten Therapiezeit mit Everolimus,
- **PR (partielle Remission, partielles Ansprechen)**
als Verbesserung des organbezogenen Schweregrades um mindestens einen Schweregrad, Verbesserung des Gesamtschweregrades um mindestens einen Schweregrad, keine Dosiserhöhung von Prednisolon (maximal innerhalb der Steroidäquivalenzdosis von 7,5 mg), keine Dosiserhöhung von MMF und keine Intensivierung der ECP während der gesamten Therapiezeit mit Everolimus,
- **SD (Stable Disease = stabile Erkrankung der cGvHD, keine Änderung)**
als keine Verbesserung des organbezogenen Schweregrades, keine Verbesserung des Gesamtschweregrades, keine Dosierhöhung von Prednisolon, keine Dosiserhöhung von MMF und keine Intensivierung der ECP während der gesamten Therapiezeit mit Everolimus,
- **PD (Progressive Disease = progrediente Erkrankung, Verschlechterung der cGvHD, kein Ansprechen)**
als Verschlechterung des organbezogenen Schweregrades mit und ohne Verschlechterung des Gesamtschweregrades und/oder Dosiserhöhung von Prednisolon, Dosiserhöhung von MMF, Intensivierung der ECP während der gesamten Therapiezeit mit Everolimus,
- **MR (Mixed Response, gemischtes Ansprechen)**
als gleichzeitige Verbesserung (CR und PR) in einem oder mehreren betroffenen Organen und Verschlechterung (PD) in einem oder mehreren Organen.

4.4 Statistik

Zur Datenaufbereitung wurden Office-Programme verwendet. Die statistischen Analysen erfolgten mit SPSS (Statistic Package for the Social Science) für Windows in der Version 19.0.

Ordinale und nominale Variablen wurden mit Hilfe von Kreuztabellen analysiert und nachfolgend mittels ihrer absoluten und prozentualen Zusammenhänge beschrieben. Die statistische Signifikanz wurde mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests berechnet und ab einem *p-Wert* von $< 0,05$ angenommen. Bei Unterschreiten der minimal erwarteten Häufigkeit in ≥ 1 Zelle der erstellten Kreuztabelle, wurde der „exakte Test nach FISHER“ zur Berechnung und Darstellung der statistischen Signifikanz durchgeführt, da er bei besonders kleinen Stichproben genauer ist [Fisher 1922].

Metrische Variablen wurden mit den deskriptiven und explorativen Analysefunktionen von SPSS analysiert und dargestellt.

Die Analyse zum Überleben erfolgte mit der Methode zur Darstellung nach Kaplan-Meier [Kaplan und Meier 1958]. Zur Ermittlung von Unterschieden zwischen den Gruppen mit einer statistischen Signifikanz $p < 0,05$ wurde der Log-Rank-Test nach Cox-Mantel eingesetzt [Mantel 1966]. Zur Beurteilung des Therapieansprechens von Everolimus bezüglich dessen Behandlungsbeginn und Behandlungsende wurde der Wilcoxon-Rank-Test durchgeführt, wobei ein *p-Wert* von $< 0,05$ als statistisch signifikant beurteilt wurde [Wilcoxon 1945].

Zur Analyse des Rangkorrelationskoeffizienten der Zufallsstichprobe bei vorliegenden ordinalskalierten Daten wurde die Methode nach Spearman eingesetzt, dessen Wertebereich von r_s zwischen den Grenzen -1 und +1 erstreckt. Ein positives Vorzeichen stellt einen gleichsinnigen, ein negatives Vorzeichen einen gegensinnigen Zusammenhang dar und $r_s = 0$ bedeutet, dass kein monotoner Zusammenhang gegeben ist [Spearman 1904].

5 Ergebnisse

5.1 Applikationsdauer und Therapiebeginn von Everolimus

Die mediane Behandlungszeit mit Everolimus von den in die Untersuchung eingeschlossenen Patienten (n=38) lag bei 7,1 Monaten (Bereich: 0,6 – 46,6 Monate) respektive bei 216 Tagen (Bereich: 18 – 1418 Tage). Die mTOR-basierende cGvHD-Therapie wurde im Median 27,7 Monate (Bereich: 3,4 – 134,6 Monate) respektive 837 Tage (Bereich: 100 – 4030 Tage) nach allogener Stammzelltransplantation begonnen.

5.2 Vorbehandlung der cGvHD

Alle Patienten (100%) erhielten bereits Prednisolon zur Behandlung der cGvHD. Cyclosporin A (n=37, 97,4%) und Tacrolimus (n=33, 86,8%) wurden mit Prednisolon bei den Patienten in nachfolgenden Linientherapien als Basisimmunsuppressivum eingesetzt. Mycophenolat nahmen als Koimmunsuppressivum bereits 35 Patienten (92,1%) ein. Eine ECP erfolgte bei 7 Patienten (18,4%). Die UVA-1-Therapie als Lichttherapie wurde bei 9 Patienten (23,7%) und die Bade-PUVA-Therapie bei 2 Patienten (5,3%) angewendet.

Die Häufigkeiten der bis 24 Stunden vor Beginn der mTOR-Therapie eingesetzten Medikamente und der immunmodulatorisch wirksamen ECP sind in Tabelle 10 zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 10: cGvHD-Therapie vor Behandlungsbeginn mit Everolimus

Medikament oder immunmodulatorische Therapie	Patientenanzahl [n]	Prozent [%]
Prednisolon	38	100,0
Cyclosporin A	4	10,5
Tacrolimus	19	50,0
Mycophenolat	21	55,3
Extrakorporale Photopherese	5	13,2

Everolimus wurde bei allen Patienten mit einer fortgeschrittenen steroidresistenten cGvHD eingesetzt und somit nicht innerhalb einer Erstlinientherapie. Als Zweitlinientherapie erhielten 15 Patienten (39,5%) Everolimus, als Drittlinientherapie 12 Patienten (31,6%). In vierter

Behandlungslinie erhielten 7 Patienten (18,4%) und in fünfter Linie 4 Patienten (10,5%) den mTOR-Inhibitor, Abbildung 9.

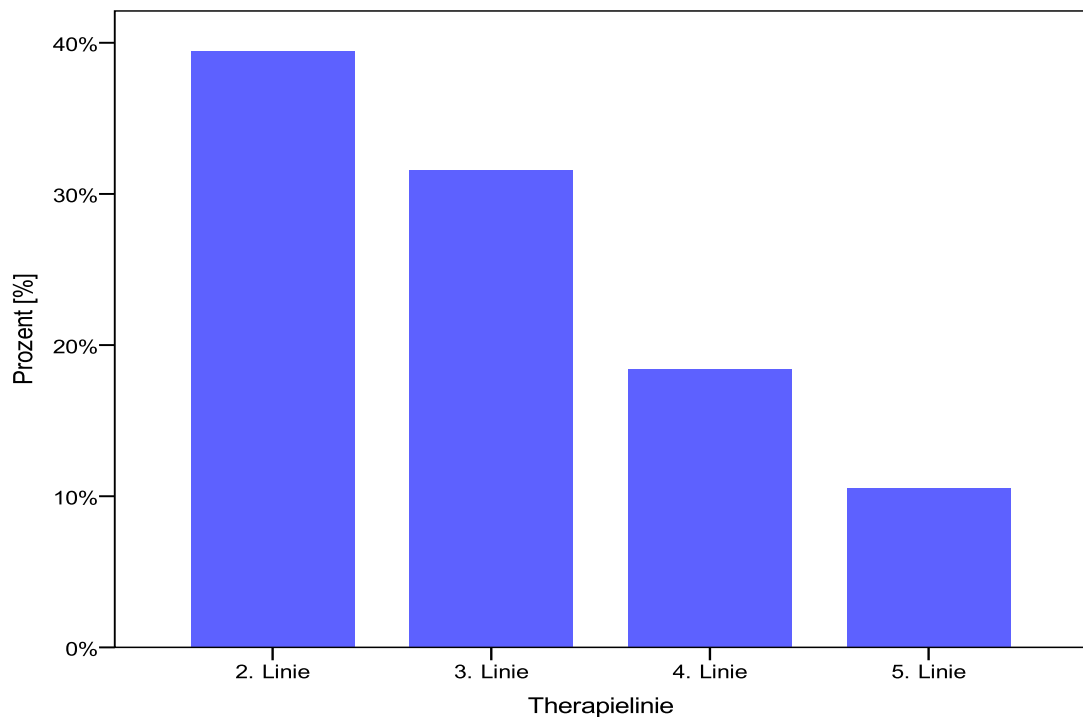


Abbildung 9: Verteilung der everolimushaltigen Behandlungslinien

5.3 Indikation zur Umstellung auf Everolimus

Die Notwendigkeit zu einem individuellen Heilversuch mit Everolimus ergab sich bei allen Patienten durch die Behandlungsbedürftigkeit der cGvHD. Eine progredient fortschreitende cGvHD respektive eine therapierefraktäre cGvHD war die Hauptindikation bei 31 Patienten (81,6%). Außerdem ergaben sich Behandlungsgründe zur Umstellung im Vorliegen einer transplantat-assoziierten thrombozytopenischen Mikroangiopathie (TMA, n=1, 2,6%), dem Ziel der Prednisolonreduktion (n=1, 2,6%) und den bestehenden Nebenwirkungen durch vorherige cGvHD-Therapien (n=5, 13,2%), Tabelle 11.

Tabelle 11: Indikationsstellung für Everolimus

Indikation	Patientenanzahl n [%]
Therapiebedürftige cGvHD	n=38 [100,0%]
Progrediente cGVHD bzw. therapierefraktäre cGvHD	n=31 [81,6%]
davon zusätzlich Nebenwirkungen durch vorangehende IS:	
- arterielle Hypertonie und Niereninsuffizienz unter FK 506 n=1,	
- Arthralgien unter FK506 n=1,	
- gastrointestinale Nebenwirkung unter MMF (Nausea) n=1.	
TMA	n=1 [2,6%]
Ziel Prednisolonreduktion (alleiniger Grund)	n=1 [2,6%]
Nebenwirkungen unter der vorangehenden Immunsuppression (alleiniger Grund)	n=5 [13,2%]
davon:	
- Nierenfunktionsverschlechterung unter CNI und aseptische Knochennekrose unter FK506 + Prednisolon n=1,	
- Nierenfunktionsverschlechterung unter FK506 n=1,	
- aseptische Knochennekrose unter FK506 + Prednisolon n=1,	
- Muskelkrämpfe unter FK506 n=1,	
- CNI-Unverträglichkeit mit Brennen der Füße, Tremor und Auftreten von Fragmentozyten 0,5%° n=1.	

Legende: Immunsuppression (IS), Tacrolimus (FK 506), Calcineurininhibitoren (CNI)

5.4 Behandlungskombinationen mit Everolimus

Zum Therapiebeginn erhielten die Patienten Everolimus in einer gleichzeitig applizierten zwei- bis vierfach immunsuppressiven Behandlungskombination, wobei der Anteil des Ko-Therapeutikums Prednisolon (PSL) mit Everolimus (n=17, 45%) und der drei gleichzeitig wirkenden Medikamente PSL, MMF und Everolimus (n=16, 42%) annähernd gleich waren. Ein kleinerer Teil der Patienten (n=5, 13%) wurde mit einer Vierfachkombination PSL, MMF, ECP und Everolimus initial behandelt, Abbildung 10.

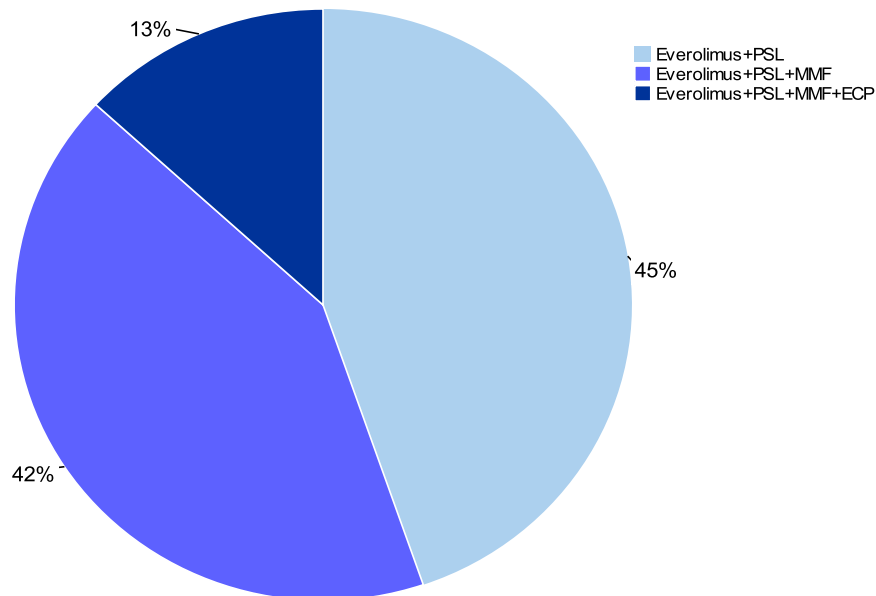


Abbildung 10: Ko-Therapeutika Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP) mit Everolimusstart

5.5 Gesamtschweregrad der cGvHD

Unmittelbar vor Beginn der Everolimus therapie lag bei 18 Patienten (47,4%) ein moderater Gesamtschweregrad und bei 20 Patienten (52,6%) ein schwerer Gesamtschweregrad der cGvHD nach den NIH-Kriterien vor.

Nach der „alten“ Schweregradklassifikation erhielten Everolimus 37 Patienten (97,4%) mit extensiver cGvHD und ein Patient (2,6%) mit einer rezidierten limitierten cGvHD.

5.6 Everolimusdosierung und Plasmaspiegel

Die Everolimusdosis mit Therapiebeginn war bei 16 Patienten (42,1%) mit 2 x 0,75 mg täglich, bei 20 Patienten (52,6%) mit 2 x 0,5 mg täglich und bei 2 Patienten (5,3%) mit 2 x 1 mg täglich gewählt wurden. Der mediane Plasmaspiegel von Everolimus war in der gesamten Gruppe bei 3,2 ng/ml (Bereich: 1,3 bis 9,3 ng/ml). Durchgängig lag der therapeutische Zielspiegel zwischen 3 – 7 ng/ml während der gesamten Behandlungszeit bei 17 Patienten (44,7%) mit einem medianen Plasmaspiegel von 3,9 ng/ml (Bereich: 3,0 bis 5,0 ng/ml).

5.7 Allgemeines Therapieansprechen

5.7.1 Allgemeines Ansprechen nach historischer cGvHD-Klassifikation

Bei 10 Patienten (26,3%) konnte eine Verbesserung des Gesamtschweregrades nach „alter“ Klassifikation bei einer medianen Behandlungsdauer von 20,3 Monaten (Bereich: 2,8 – 46,6 Monate) aller 38 Patienten erreicht werden. Davon hatten 4 Patienten keine aktive chronische GvHD mehr und 6 Patienten eine limitierte cGvHD. Ein klinisches Ansprechen der Everolimustherapie konnte nach 5,5 Monaten im Median (Bereich: 2,0 – 42,0 Monate) sowie ein durchschnittlich dauerhaftes Ansprechen nach 7,5 Monaten (Bereich: 2,0 – 42,0 Monate) beobachtet werden. Unter der Everolimustherapie wurde bei zwei Patienten von den vier Patienten, die am Ende keine cGvHD aufwiesen, MMF und Prednisolon eingesetzt. Davon konnte bei einem Patienten MMF beendet werden. Bei zwei Patienten, die MMF erhielten und eine limitierte Form der cGvHD erreichten, konnte MMF beendet werden.

5.7.2 Allgemeines Ansprechen nach NIH-Klassifikation der cGvHD

Nach Berücksichtigung der NIH - Klassifikation konnte bei 20 Patienten (52,6%) eine Reduktion des Gesamtschweregrades nachgewiesen werden, Tabelle 12.

Tabelle 12: Verbesserung des Gesamtschweregrades unter Everolimus

Gesamtschweregrad mit Everolimusbeginn	Gesamtschweregrad mit Beobachtungszeitende			
	keine cGvHD n [%]	milde cGvHD n [%]	moderate cGvHD n [%]	schwere cGvHD n [%]
moderate cGvHD	3 [7,9]	3 [7,9]	5 [13,2]	2 [5,3]
schwere cGvHD	1 [2,6]	3 [7,9]	10 [26,3]	11 [28,9]

Legende: Patientenanzahl (n)

Bezogen auf den Gesamtschweregrad der cGvHD zu Beginn der Everolimustherapie erreichten 4 Patienten (10,5%) eine komplette Remission (CR) und 13 Patienten (34,2%) eine partielle Remission (PR). Bei 6 Patienten (15,8%) zeigte sich ein stabiles Verhalten ohne Verschlechterung der cGvHD (SD). Vier Patienten (10,5%) zeigten eine Progression der cGvHD (PD). Elf Patienten (28,9%) hatten ein gemischtes Ansprechen (MR) mit mindestens einer organbezogenen Progression und/oder mindestens einem organbe-

zogenen Ansprechen mit oder ohne Verbesserung des Gesamtschweregrades, Tabelle 13. Davon konnten drei Patienten mit initial schweren Gesamtschweregrad einen moderaten Gesamtschweregrad erreichen.

Tabelle 13: Remissionsstatus am Beobachtungszeitende mit Everolimus

Gesamtschweregrad mit Everolimusbeginn	Remissionsstatus am Beobachtungszeitende mit Everolimus				
	CR n [%]	PR n [%]	SD n [%]	PD n [%]	MR n [%]
moderate cGvHD	3 [7,9]	3 [7,9]	1 [2,6]	3 [7,9]	3 [7,9]
schwere cGvHD	1 [2,6]	10 [26,3]	5 [13,2]	1 [2,6]	8 [21,0]

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR)
Patientenanzahl (n), chronische Graft-versus-Host-Disease (cGvHD)*

5.7.3 Therapieansprechen abhängig von der Behandlungslinie

Aus der Sicht der Behandlungslinie stellte sich das Ansprechen bei moderater und schwerer cGvHD so dar, dass eine komplette Remission bei jeweils 2 Patienten unter Verwendung von Everolimus in der Dritt- und Viertlinientherapie erreicht wurde. Eine partielle Remission konnte im Einsatz von Everolimus in einer \geq Zweitlinientherapie wie folgt beobachtet werden: in Anwendung als zweite Behandlungslinie 5 Patienten, in der dritten Linie 3 Patienten, in der vierten Linie 3 Patienten und in der fünften Linie 2 Patienten. Eine Progression der cGvHD wurde unter Einsatz von Everolimus in zweiten und dritten Behandlungslinie bei jeweils zwei Patienten verzeichnet. Ein gemischtes Ansprechen zeigte sich in der Zweit- und Drittlinentherapie bei jeweils 4 Patienten, in der Drittlinentherapie bei 2 Patienten und bei einem Patienten in der Fünftlinientherapie, Tabelle 14.

Tabelle 14: Remissionsstatus innerhalb einer Behandlungslinie bei moderater und schwerer cGvHD

	CR n	PR n	SD n	PD n	MR n
moderate cGvHD					
Zweitlinientherapie	0	2	0	2	2
Drittlinientherapie	2	1	1	1	1
Viertlinientherapie	1	0	0	0	0
schwere cGvHD					
Zweitlinientherapie	0	3	4	0	2
Drittlinientherapie	0	2	0	1	3
Viertlinientherapie	1	3	0	0	2
Fünftlinientherapie	0	2	1	0	1
moderater und schwere cGvHD					
Zweitlinientherapie	0	5	4	2	4
Drittlinientherapie	2	3	1	2	4
Viertlinientherapie	2	3	0	0	2
Fünftlinientherapie	0	2	1	0	1

Legende: *Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR)
Patientenanzahl (n), chronische Graft-versus-Host-Erkrankung (cGvHD)*

Das Therapieansprechen unterschied sich nicht signifikant hinsichtlich der Everolimus-haltigen Behandlungslinie (*moderater Gesamtschweregrad initial: $p=0,513$, schwere Gesamtschweregrad initial: $p=0,382$, moderater und schwerer Gesamtschweregrad: $p=0,613$*).

5.7.4 Therapieansprechen abhängig von der Medikamentenkombination

Unter Berücksichtigung der eingesetzten GvHD-spezifischen Komedikation mit Prednisolon und/oder Mycophenolat und ECP bezogen auf eine moderate oder schwere cGVHD stellt sich Therapieansprechen wie folgt dar:

Eine komplette Remission in der Kombination mit Prednisolon erreichten 2 Patienten, in der Kombination mit Prednisolon und Mycophenolat ein Patient und in der Kombination mit Prednisolon, Mycophenolat und ECP ebenso ein Patient. Eine partielle Remission war bei 5 Patienten mit der Komedikation Prednisolon, bei 5 Patienten mit der Komedikationen Prednisolon und Mycophenolat und bei 3 Patienten in der Komedikationen Prednisolon, Mycophenolat und ECP eingetreten, Tabelle 15.

Tabelle 15: Remissionsstatus unter Berücksichtigung der GvHD-spezifischen Komedikation bei moderater und schwerer cGvHD

	CR	PR	SD	PD	MR
	n	n	n	n	n
moderate cGvHD					
Everolimus+Prednisolon	2	3	1	2	1
Everolimus+Prednisolon/ MMF	0	0	0	1	2
Everolimus+Prednisolon/ MMF/ ECP	1	0	0	0	0
schwerer cGvHD					
Everolimus+Prednisolon	0	2	4	0	2
Everolimus+Prednisolon /MMF	1	5	1	1	5
Everolimus+Prednisolon/ MMF/ ECP	0	3	0	0	1
moderate und schwere cGvHD					
Everolimus+Prednisolon	2	5	5	2	3
Everolimus+Prednisolon/ MMF	1	5	1	2	7
Everolimus+Prednisolon/ MMF/ ECP	1	3	0	0	1

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR)
Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photphorese (ECP)
Patientenanzahl (n), chronische Graft-versus-Host-Erkrankung (cGvHD)*

Das Therapieansprechen unterschied sich nicht signifikant hinsichtlich der eingesetzten Komedikation (*moderater Gesamtschweregrad initial: $p=0,317$, schwere Gesamtschweregrad initial: $p=0,320$, moderater und gesamter Schweregrad $p=0,407$*).

5.7.5 Zeitliches Therapieansprechen

Eine partielle Remission konnte im Median nach 3 Monaten (Bereich: 1 – 9 Monate) bei 17 Patienten erreicht werden, von denen 4 Patienten im Median nach 22,5 Monaten (Bereich: 2 – 39 Monate) noch eine CR erzielten.

Bei 11 Patienten, die ein Progress (PD, $n=4$) respektive ein nicht Schweregrad verbesserndes Ansprechen zeigten (SD, $n=2$) oder ein gemischtes Ansprechen (MR, $n=5$) erfolgte innerhalb des Beobachtungszeitraumes eine Therapieumstellung im Median nach 195 Tagen (Bereich: 47 – 555 Tage) respektive nach 6,4 Monaten (Bereich: 1,6 – 18,3 Monate). Bei einem Patienten wurde bei gemischtem Ansprechen die cGvHD-Therapie wegen einer geplanten Operation nach einer Behandlungsdauer von 429 Tagen respektive 14,3 Monaten umgestellt.

Die Therapie mit Everolimus wurde aufgrund von Tod bei 4 Patienten beendet, Median 0,6 Monate (Bereich: 0,5 – 2,1 Monate) respektive 19 Tage (Bereich: 16 – 64 Tage). Weder eine Progression als auch Verbesserung des Remissionsstatus trat bei den verstorbenen Patienten (SD, n=3, MR, n=1) ein.

5.7.6 Steroid-sparender Effekt unter Everolimus

Alle Patienten erhielten Prednisolon mit Beginn der mTOR-Inhibitor-Therapie. Die durchschnittliche Tagesdosis lag bei 0,22 mg/kg (Bereich: 0,03 – 2,00 mg/kg) respektive bei 18,3 mg absolut (Bereich: 2,5 – 140 mg) zu Beginn der Everolimustherapie. Bei 20 Patienten (52,6%) konnte die Steroidausgangsdosis im Median auf 0,12 mg/kg (Bereich: 0,03 – 0,38 mg/kg) respektive auf 9,5 mg/d (Bereich: 2,5 – 23,0 mg/d) unter der Everolimustherapie reduziert werden. Elf Patienten (28,9%) mit einer Prednisolonreduktion zeigten ein eindeutiges Therapieansprechen (CR: n=3, PR: n=8). Dies war statistisch signifikant ($p=0,025$). Sieben Patienten (18,4%) mit einer Prednisolonreduktion zeigten ein gemischtes Ansprechen (MR). Eine Prednisolonreduktion erfolgte bei einem Patienten (2,6%) mit einem stabilen Krankheitsverhalten (SD) hinsichtlich der cGVHD. Bei einem Patienten (2,6%) mit einer letztlich progredienten cGVHD 8,4 Monate respektive 254 Tagen nach Therapiebeginn mit Everolimus wurde Prednisolon um 50% der Ausgangsdosis innerhalb der ersten vier Behandlungswochen reduziert (0,44 mg/kg auf 0,22 mg/kg respektive 30 mg/d auf 15 mg/d). Außerdem wurde die Prednisolondosis um $\geq 50\%$ bei noch weiteren 8 Patienten reduziert, von denen 6 Patienten eine CR (n=2) oder PR (n=4) erreichten. Ein Patient zeigte ein stabiles Krankheitsverhalten und ein Patient hatte ein gemischtes Krankheitsansprechen (n=2 mit Komedikation Prednisolon und MMF). Die Dosisreduktion von Prednisolon unterschied sich nicht statistisch signifikant welche Kombinationstherapie (Everolimus + Prednisolon: n=7, Everolimus + Prednisolon/Mycophenolat: n=9 oder Everolimus + Prednisolon/Mycophenolat/ECP: n=4) eingesetzt wurde ($p=0,289$). Die Prednisolonreduktion war unabhängig zur Behandlungslinie, in der Everolimus eingesetzt wurde (2. Behandlungslinie: n=7, 3. Linie: n=6, 4. Linie: n=4, 5. Linie: n=3, $p=0,775$).

5.7.7 Dosisreduktion und Beendigung von Mycophenolat

Das Komedikament Mycophenolat wurde bei 21 Patienten (55,3%) mit Beginn der Everolimustherapie fortgesetzt. Von 16 Patienten mit einer Tagestherapiedosis von 1440 mg konnten bei 9 Patienten Mycophenolat dosisreduziert (n=3) oder beendet (n=6) werden. Bei einem von zwei Patienten mit einer MMF-Dosis von 720 mg täglich konnte eine Dosisreduktion erfolgen. Eine Beendigung bei einem von drei Patienten mit 320 mg pro Tag wurde zudem beobachtet.

War eine Dosisreduktion möglich (n=11 von 21, 52,3%), erfolgte diese im Median nach 59 Tagen (Bereich: 22 – 1075 Tagen) respektive 1,93 Monaten (Bereich: 0,72 – 35,2 Monate), eine Beendigung wurde im Median von 323 Tagen (Bereich: 119 – 653) respektive 10,6 Monaten (Bereich: 3,9 – 21,4 Monate) erreicht.

Eine Beendigung der Immunsuppression mit Mycophenolat unter Everolimus war bei 7 (33,3%) von insgesamt 21 Patienten mit der Komedikation möglich. Davon erreichte ein Patient eine CR, 5 Patienten erzielten eine PR und ein Patient ein MR. Unter Erreichen einer PR konnte MMF bei 2 Patienten reduziert werden, ebenso bei 2 Patienten mit einem MR. Von 10 Patienten (47,6%), bei denen MMF während des gesamten Beobachtungszeitraumes in konstanter Dosierung gegeben wurde, erreichten ein Patient eine CR sowie ein Patient einer PR, ein Patient blieb im Stadium SD, 5 Patienten hatten einen MR und 2 Patienten waren progredient, Tabelle 16.

Tabelle 16: Remissionsstatus und Dosisverhalten von MMF

	CR	PR	SD	PD	MR
	n	n	n	n	n
Everolimus und Prednisolon und MMF					
Dosisreduktion von MMF	0	1	0	0	1
Beendigung von MMF	0	3	0	0	1
unveränderte Dosis von MMF	1	1	1	2	5
Everolimus und Prednisolon und MMF und ECP					
Dosisreduktion von MMF	0	1	0	0	1
Beendigung von MMF	1	2	0	0	0
unveränderte Dosis von MMF	0	0	0	0	0

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR),
Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photophorese (ECP),
Patientenanzahl (n)*

5.7.8 Beendigung der extrakorporalen Photophorese

Mit Everolimusbeginn erhielten 5 Patienten weiterhin eine ECP, neben den Ko-Immunsuppressiva Prednisolon und MMF innerhalb einer medianen Behandlungszeit von 1342 Tagen (Bereich: 810 – 1351 Tage) respektive 44,2 Monate (Bereich: 25,6 – 44,4 Monate). Zwei Patienten erhielten Everolimus in der genannten Medikamentenkombination mit ECP in vierter Behandlungslinie und 3 Patienten in fünfter Behandlungslinie. Vier von fünf Patienten hatten eine schwere cGvHD, von denen drei eine PR erreichten. Ein Patient mit moderater cGvHD erreichte eine CR. Ein Patient mit schwerer cGvHD hatte zum Beobachtungszeitende eine MR. Drei Patienten sprachen innerhalb von 2 Monaten (Bereich: 1 – 5 Monate) im Median an, ein Patient (UPN 364) erreichte nach 39 Monaten eine CR.

Bei einer Patientin (UPN 100) konnte nach 870 Tagen (28,5 Monate) die ECP seit Behandlungsbeginn mit Everolimus beendet werden. Zuvor erfolgte bei dieser Patientin bereits die MMF-Dosisreduktion von 1440 mg/d ab Tag 39 (1,3 Monate) nach Everolimusbeginn und die komplette Beendigung von MMF nach 323 Tagen (10,6 Monate). Mit einem Beobachtungszeitraum von 1343 Tagen (44,2 Monate) erreichte die Patientin eine partielle Remission mit Everolimus unter Beibehaltung der Prednisolondosierung von 5 mg/d und Beendigung von MMF und der ECP.

Bei den weiteren 4 Patienten wurde die ECP bis zum Ende der Beobachtungszeit fortgeführt. Prednisolon konnte bei 3 Patienten im Median nach 34 Tagen (Bereich: 14 – 283 Tage; Median: 1,1 Monate, Bereich: 0,5 – 9,3 Monate) reduziert werden, bei einem Patienten blieb die Dosis unverändert. MMF wurde bei 4 Patienten reduziert (Median: 375 Tage, Bereich: 118 – 1075 Tage respektive 12,3 Monate, Bereich: 3,9 – 35,4 Monate) und bei 2 Patienten (408 Tage respektive 13,4 Monate und 650 Tage respektive 21,4 Monate) beendet.

5.7.9 GvHD-risikobestimmende Faktoren und der Gesamtschweregrad

Das Therapieansprechen unterschied sich nicht signifikant bezüglich des HLA-Matches ($p=0,369$) und des Empfänger-Spender-Geschlechterverhältnis ($p=0,657$). Der initiale Gesamtschweregrad der cGvHD mit Behandlungsbeginn von Everolimus – moderater versus schwerer cGvHD – unterschied sich ebenso nicht signifikant ($p=0,443$). Das Vorhandensein von den cGvHD-Risikoparametern Thrombozytopenie und einem progressiven Beginn (kein Risikoparameter: $n=6$, ein Risikoparameter: $n=27$, zwei Risikoparameter: $n=5$) beeinflussten nicht signifikant das Therapieansprechen ($p=0,301$). Die Anzahl der betroffenen Organe (1-Organ: $n=2$, 2-Organe: $n=4$, 3-Organe: $n=21$, 4-Organe: $n=6$, 5-Organe: $n=5$) beeinflusste nicht signifikant das Therapieansprechen ($p=0,139$). Drei Patienten wiesen eine Eosinophilie mit Therapiebeginn auf, wobei ein Patient eine PR erreichte und zwei Patienten kein Ansprechen zeigten (SD: $n=1$, PD: $n=1$). Das Therapieansprechen hinsichtlich des Vorhandenseins einer Eosinophilie mit Beginn der Everolimusbehandlung als auch am Beobachtungszeitende unterschied sich statistisch nicht signifikant ($p=0,473$).

5.7.10 Überleben nach Initiierung der Everolimustherapie

Das Überleben der 38 Patienten, die bei fortgeschrittener cGvHD Everolimus erhielten, wurde hinsichtlich verschiedener Subgruppen beurteilt, um Indikatoren zu finden, welche Patienten besonders von dem Einsatz von Everolimus profitieren könnten.

Der Gesamtbeobachtungszeitraum der untersuchten Patienten seit Behandlungsbeginn mit Everolimus lag zwischen 18 und 1418 Tagen und im

Median bei 977 Tagen, in dem 5 Patienten an den Folgekomplikationen der cGvHD (UPN 405: globale Herzinsuffizienz mit Stauungspneumonie und Multiorganversagen, UPN 437: Sepsis, UPN 538: Candida glabrata Pneumonie, UPN 543: invasive pulmonale Aspergillose, UPN 559: Sepsis), eine Patientin an einem Rezidiv der Prä-B-ALL und den Folgen der noch bestehenden cGvHD (UPN 496) und 2 Patienten am Rezidiv (UPN 468 B-ALL, UPN 567 sekundäre AML aus MDS) verstorben sind.

Die Überlebenswahrscheinlichkeit nach Kaplan-Meier lag bei 78,9% und stellt sich wie folgt in Abbildung 11 dar.

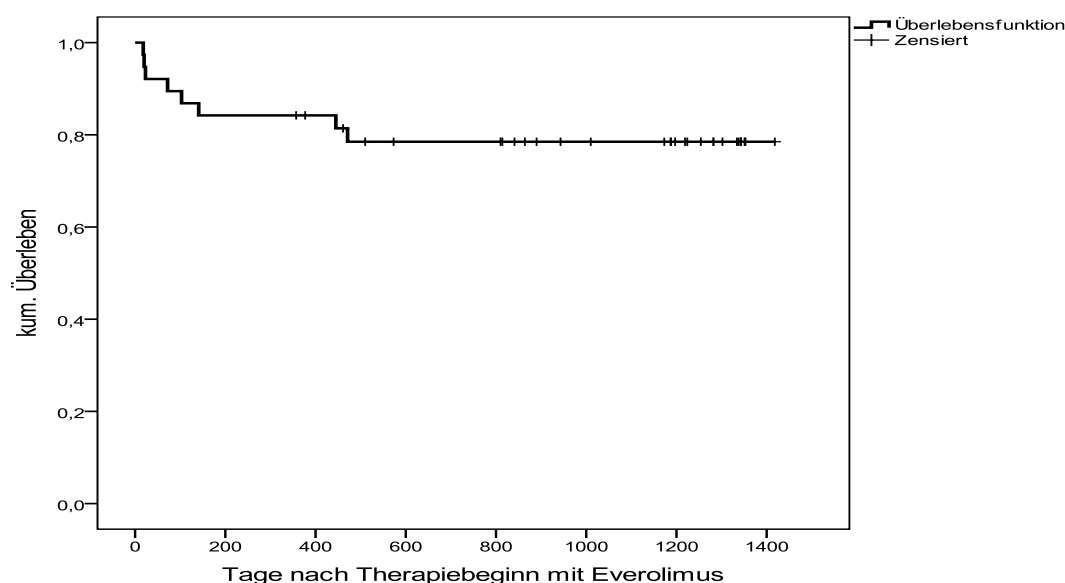


Abbildung 11: Überlebenswahrscheinlichkeit der Gesamtpopulation

Es folgte eine Analyse, ob ein Einfluss des Gesamtschweregrades der cGvHD zu Beginn der mTOR-haltigen Therapie auf das Überleben bestand. Die Ergebnisse sind in Tabelle 17 zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 17: Überleben abhängig vom Gesamtschweregrad der cGvHD

Gesamtschweregrad der cGvHD	Patientenanzahl N	Überleben n [%]
moderate cGvHD	18	15 [83,3%]
schwere cGvHD	20	15 [75,0%]

Legende: chronische Graft-versus-Host-Erkrankung

Im Folgenden erfolgt die graphische Darstellung der Überlebenswahrscheinlichkeit nach Kaplan-Meier, Abbildung 12.

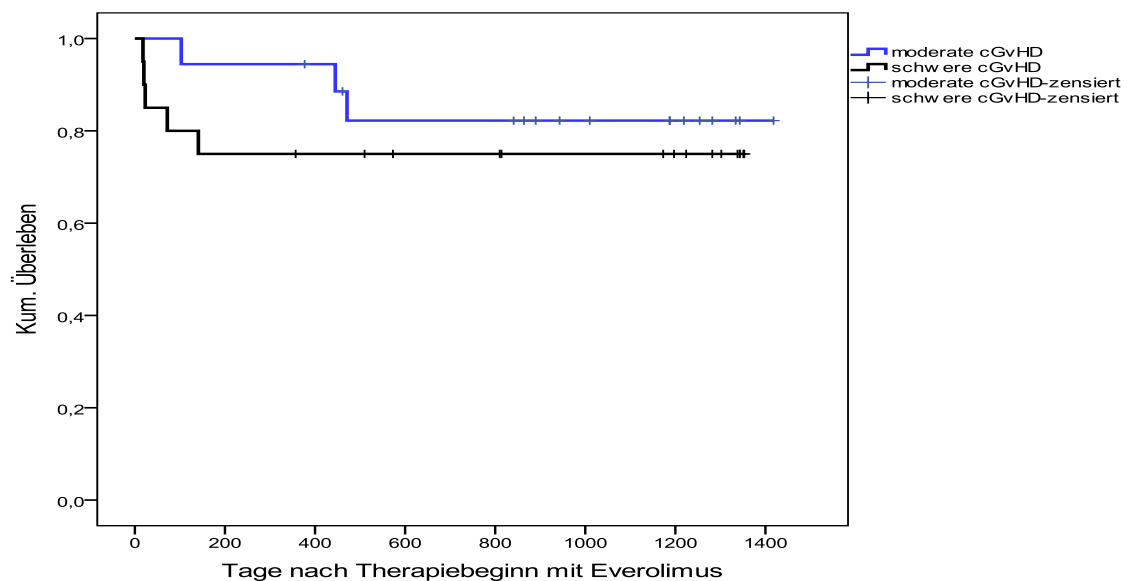


Abbildung 12: Überlebenswahrscheinlichkeit abhängig vom Gesamtschweregrad der cGvHD

Legende: chronische Graft-versus-Host-Erkrankung (cGvHD)

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen moderater und schwerer cGvHD (*Log-Rank: $p=0,456$*). In weiterführenden Untersuchungen, graphisch an dieser Stelle nicht dargestellt, zeigte sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der Überlebenswahrscheinlichkeit und dem erreichten Gesamtschweregrad, gemeint ist damit: kein Vorliegen einer aktiven cGvHD, einer milden cGvHD, einer moderaten cGvHD oder einer schweren cGvHD (*Log-Rank: $p=0,209$*). Dabei ist zu beachten, dass ein Todesfallereignis aufgrund eines B-ALL-Rezidives (UPN 468) bei erreichtem milden Gesamtschweregrad, zwei Todesfallereignisse durch eine sekundäre AML (UPN 567) und eine Sepsis (UPN 437) bei moderatem Gesamtschweregrad und fünf tödliche Ereignisse unter 4 schweren Infektionen (UPN 405, 538, 543, 559) sowie einem Rezidiv einer Prä-B-ALL bei schweren Gesamtschweregrad eintraten.

Hinsichtlich des Ansprechens auf die Everolimustherapie mit Erreichen einer CR oder PR erfolgte eine Analyse auf das Überleben und wird in Tabelle 18 gezeigt.

Tabelle 18: Überleben abhängig vom Therapieansprechen unter Everolimus

	Patientenanzahl n	Überleben n [%]
Ansprechen (CR+PR)	17	14 [82,4%]
kein Ansprechen (SD+PD)	10	6 [60,0%]
Gemischtes Ansprechen (MR)	11	10 [90,9%]

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR)*

Ein signifikanter Unterschied zwischen einem Ansprechen oder keinem Ansprechen auf das Überleben war nicht nachzuweisen (*Log-Rank: $p=0,067$*) und stellte sich wie folgt dar, Abbildung 13.

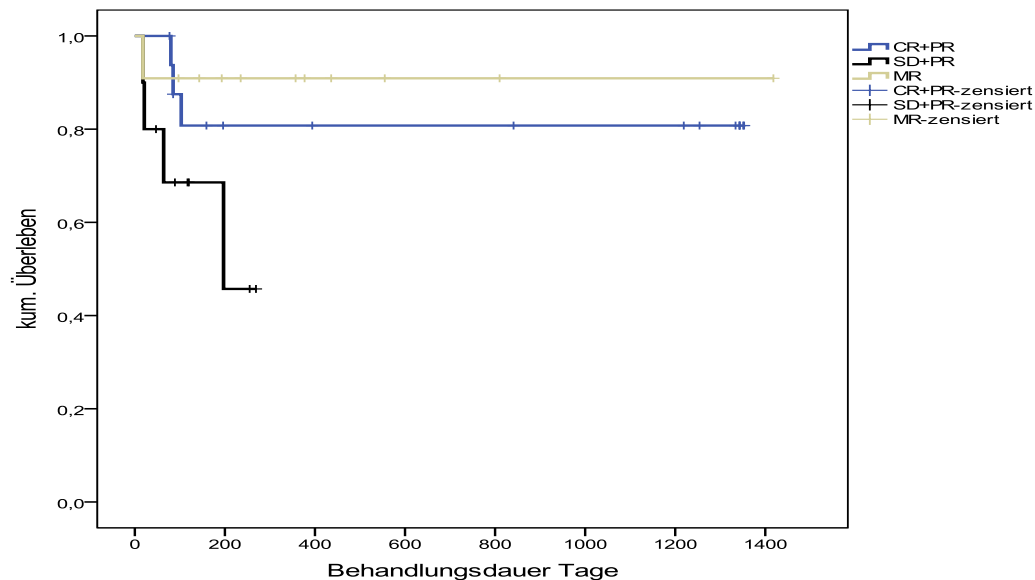


Abbildung 13: Überlebenswahrscheinlichkeit abhängig vom Therapieansprechen der moderaten und schweren cGvHD

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR)*

Hinsichtlich der Überlebensverteilung für die fünf verschiedenen Remissionsgrade zeigt sich kein signifikanter Unterschied (*Log-Rank: $p=0,045$*), Abbildung 14. Lediglich ein Trend kann mit einem ungünstigen Überleben bezüglich der Patienten beobachtet werden, die kein Ansprechen zeigten (NC=SD und PD).

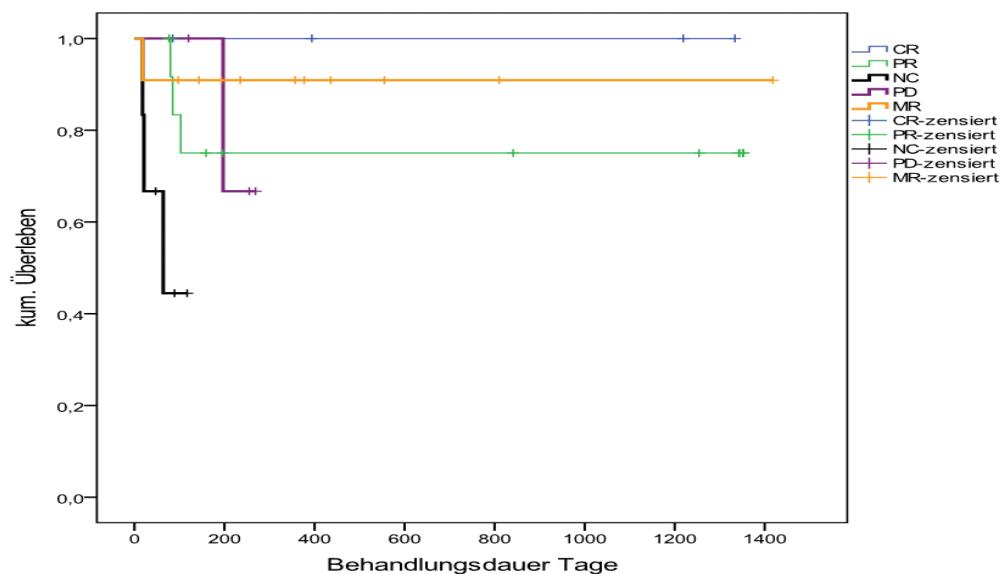


Abbildung 14: Überlebenswahrscheinlichkeit bezogen auf den Remissionsgrad

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
No Change = Stable Disease = Stabile Erkrankung (NC = SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR)*

In einer weiteren Subgruppenanalyse wurde geprüft, ob ein Zusammenhang zwischen dem Ansprechen der Therapie und dem Schweregrad zu Beginn der Everolimusbehandlung hinsichtlich des Überlebens vorlag, Tabelle 19.

Tabelle 19: Überleben abhängig vom Therapieansprechen auf Everolimus bezogen auf den Gesamtschweregrad

	Patientenanzahl N	Überleben n [%]
moderate cGvHD:		
Ansprechen (CR+PR)	6	5 [83,3%]
kein Ansprechen (SD+PD)	4	3 [75,0%]
gemischtes Ansprechen (MR)	3	3 [100%]
schwere cGvHD:		
Ansprechen (CR+PR)	11	9 [81,8%]
kein Ansprechen (SD+PD)	6	3 [50,0%]
gemischtes Ansprechen (MR)	8	7 [87,5%]

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR)*

Die in Tabelle 19 dargestellten Überlebensraten zeigen bei den sehr kleinen Patientenpopulationen keinen eindeutigen Überlebensvorteil mit Erreichen einer CR oder PR, siehe graphische Darstellung nach Kaplan-Meier in den Abbildungen 15 und 16 (*Überlebenswahrscheinlichkeit abhängig vom Ansprechen bei moderater cGvHD: Log-Rank: $p=0,776$, Überlebenswahrscheinlichkeit abhängig vom Ansprechen bei schwerer cGvHD: Log-Rank: $p=0,102$*).

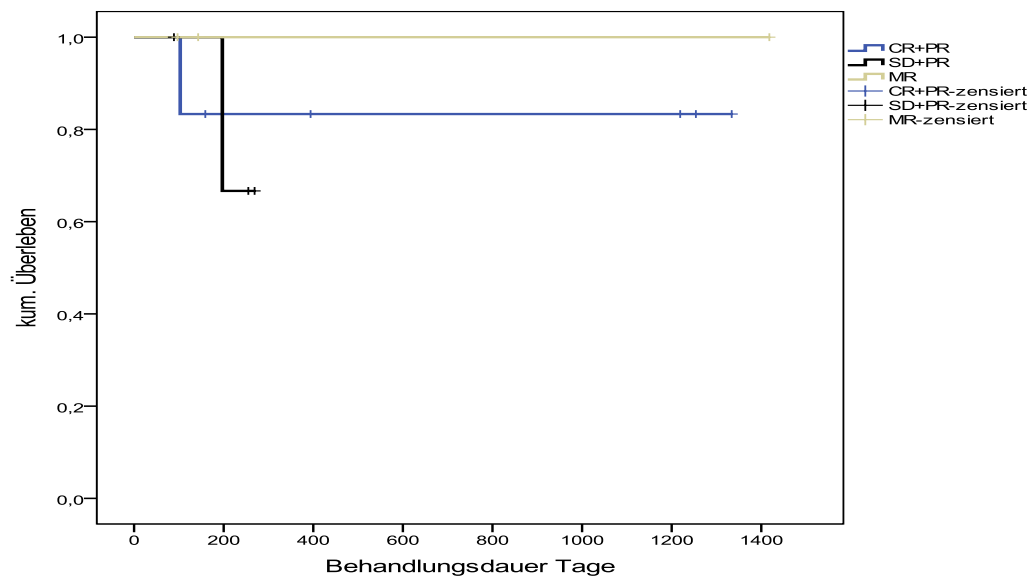


Abbildung 15: Überlebenswahrscheinlichkeit bezogen auf das Therapieansprechen bei der moderater cGvHD

Legende: *Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR), Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD), Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR), Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD), Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR)*

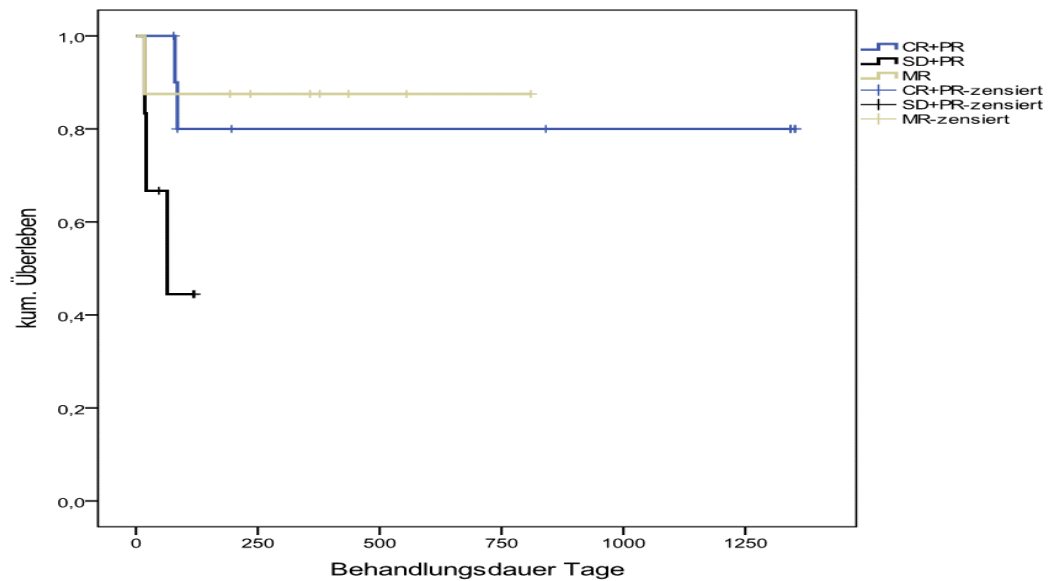


Abbildung 16: Überlebenswahrscheinlichkeit bezogen auf das Therapieansprechen bei der schwerer cGvHD

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR)*

Zudem zeigte sich ein Trend mit Darstellung in Tabelle 20, dass die Überlebenswahrscheinlichkeit abnahm, sofern eine Verschlechterung des Gesamtschweregrades (moderat zu schwer) eintrat oder die moderate oder schwere cGvHD auf die everolimushaltige Immunsuppression nicht ansprach (Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von cGvHD-Schweregrad am Beobachtungszeitende: *Log Rank p=0,068*), Abbildung 17.

Tabelle 20: Überleben abhängig vom Gesamtschweregrad am Beobachtungszeitende

Schweregrad der cGvHD Beobachtungsende	Patientenanzahl n	Überleben n [%]
keine cGvHD	4	4 [100%]
milde cGvHD	6	5 [83,3%]
moderate cGvHD	15	13 [86,7%]
schwere cGvHD	13	8 [61,7%]

Legende: chronische Graft-versus-Host-Erkrankung (cGvHD)

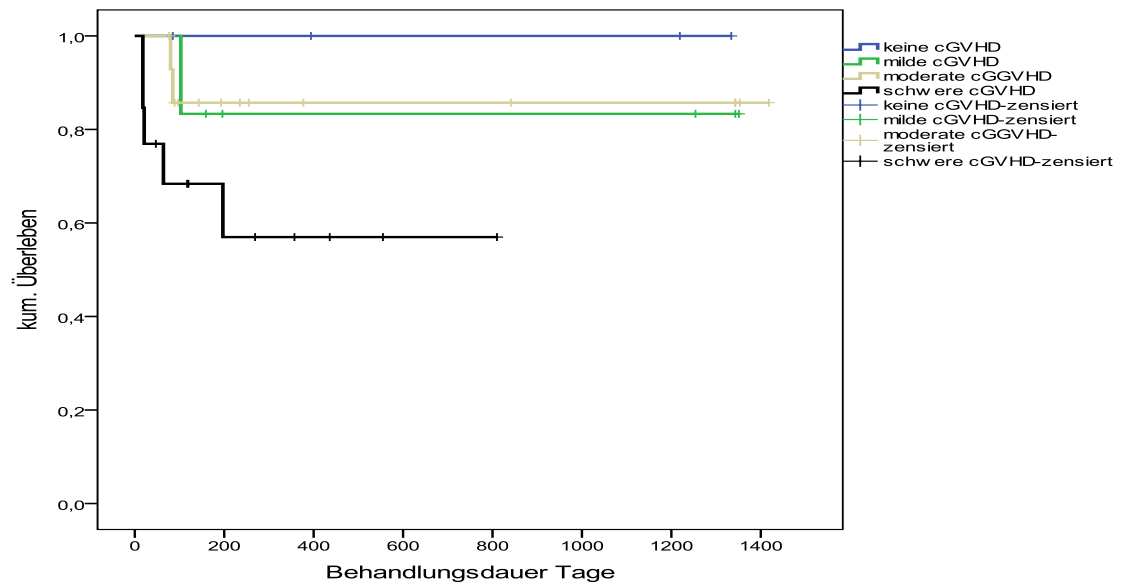


Abbildung 17: Überlebenswahrscheinlichkeit bezogen auf den Gesamtschweregrad am Beobachtungszeitende

Legende: chronische Graft-versus-Host-Erkrankung (cGVHD)

5.8 Organbezogenes Therapieansprechen

5.8.1 Therapieansprechen der cGvHD der Haut

Die Sicherung der Diagnose der chronischen kutanen GvHD erfolgte innerhalb der Patientenpopulation durch die Beurteilung erfahrener Fachärzte in der Stammzelltransplantationsambulanz. Dreiunddreißig Patienten (86,8%) hatten eine kutane cGvHD. Durch die Inspektion der Haut nicht eindeutige cGvHD-typische Befunde oder im Rahmen einer differentialdiagnostischen Abklärung erfolgte bei 27 von 33 Erkrankten (81,8%) eine Vorstellung in der Klinik und Poliklinik für Dermatologie des Universitätsklinikums Jena. Eine Hautbiopsie erhielten 25 Patienten (75,8%).

Die chronische kutane GvHD kann sich mit unterschiedlichen Symptomen und Formen präsentieren und häufig treten mehrere Symptome gleichzeitig bei einer manifesten Haut-cGvHD auf. In der untersuchten Population zeigten sich folgende Symptome und Formen zu Beginn der Everolimustherapie: 7 Patienten (21,2%) mit maculopapulärem Exanthem, 6 Patienten (18,2%) mit lichenoidem Exanthem, 4 Patienten (12,1%) mit papulär-squamösen Exanthem, 6 Patienten (18,2%) mit ichtiösem Exanthem (extreme Schuppung), 20 Patienten (60,6%) mit Hyperpigmentation, 8 Patienten (24,2%) mit Hypopigmentation, ein Patient (2,6%) mit einer Keratosis pilaris, 22 Patienten (66,7%) mit einem Erythem, 3 Patienten (9,1%) mit einem Erythroderma, 12 Patienten (36%) mit Poikiloderma, 18 Patienten (54%) mit Scleroderma, 11 Patienten (33,3%) mit einem Pruritus, 6 Patienten (18,2%) mit vermehrten Haarausfall, 11 Patienten (33,3%) mit Nagelveränderungen, Abbildung 18. Keiner der Patienten hatte eine Alopezie.

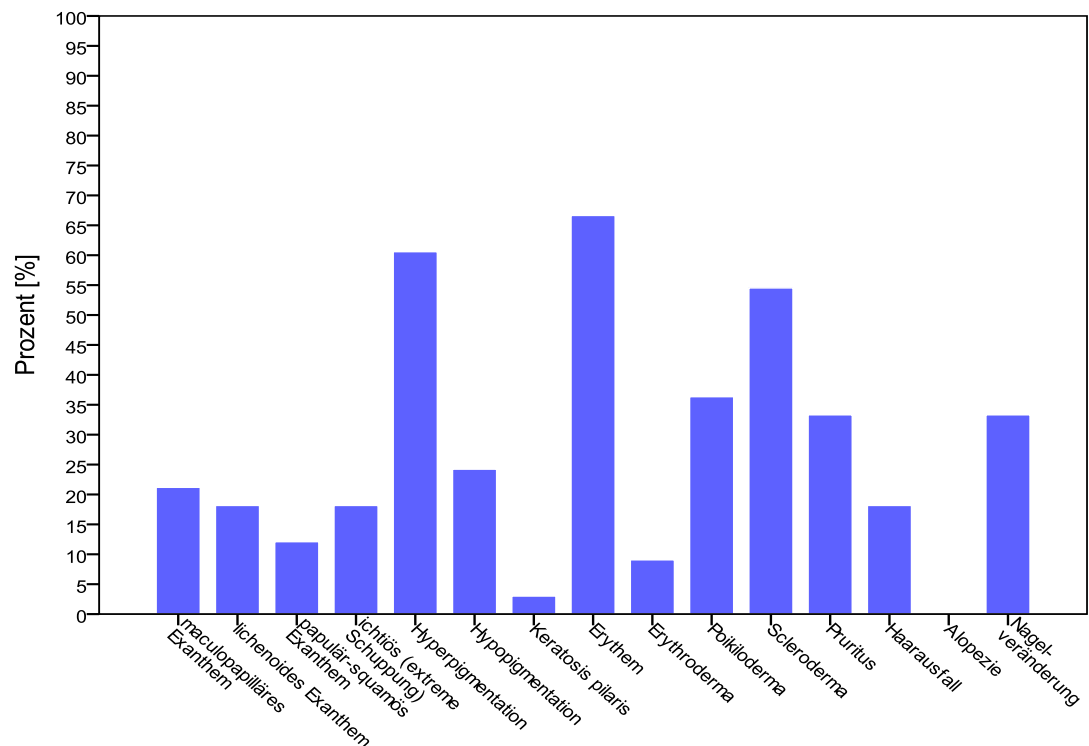


Abbildung 18: Häufigkeit der Symptome und Formen der cGvHD der Haut mit Everolimustherapiebeginn

Mit Beginn der Everolimustherapie hatten 5 Patienten (13,2%) keine cGvHD der Haut. Unter der mTOR-Inhibitorbehandlung entwickelten von denen keine kutane cGvHD und werden somit nicht weiter im organspezifischen Ansprechen beurteilt. In Tabelle 21 ist die Schweregradänderung bei den 33 Patienten aufgezeigt.

Tabelle 21: Schweregradänderung der cGvHD der Haut unter Everolimus

Schweregradverlauf	Patientenanzahl n=33	Prozent [%]
Schweregradverbesserung um 3 Grade	4	12,1
Schweregradverbesserung um 2 Grade	5	15,1
Schweregradverbesserung um 1 Grad	12	36,4
unveränderter Schweregrad	9	27,3
Schweregrad <u>verschlechterung</u> um 1 Grad	2	6,1
Schweregrad <u>verschlechterung</u> um 2 Grade	1	3,0

Ein Ansprechen mit Erreichen einer kompletten Remission oder einer partiellen Remission bezogen auf den Schweregrad der kutanen cGvHD am Ende der

Everolimustherapie respektive des Beobachtungszeitraumes konnte bei 21 Patienten (63,6%) beobachtet werden, Tabelle 22.

Tabelle 22: Remission der cGvHD der Haut

Schweregrad kutane cGvHD: Therapiebeginn	Remissionsgrad der kutanen cGvHD mit Therapieende Everolimus				Total
	CR N	PR n	SD N	PD n	n [%]
Mild	1			1	2 [6,1]
Moderat	5	3	5	2	15 [45,5]
Schwer	4	8	4		16 [48,5]
Remissionsgrad n [%]	10 [30,3%]	11 [33,3%]	9 [27,3%]	3 [9,1%]	33 [100%]

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Patientenanzahl (n), chronische Graft-versus-Host-Erkrankung (cGvHD)*

Die mediane Zeit bis zum Erreichen einer partiellen Remission bei 19 Patienten betrug 2 Monate (Bereich: 1 – 12 Monate) und die mediane Zeit bis zur kompletten Remission bei 9 Patienten mit moderater und schwerer kutaner cGvHD 9 Monate (Bereich: 1 – 36 Monate). Bei Patienten, die kein Therapieansprechen bezüglich der kutanen cGvHD zeigten, wurde die Therapie im Median nach 3,5 Monaten (Bereich: 0,6 – 14,3 Monate) beendet. Die Zeit, die zum Therapieabbruch wegen Fortschreitens der kutanen cGvHD führte, lag durchschnittlich bei 197 Tagen (Bereich: 120 – 269 Tage) respektive 6,5 Monate (Bereich: 4,0 – 8,8 Monate).

In der Gruppe der zweifach kombinierten Therapie Everolimus mit Prednisolon betrug die mediane Zeit bis zum Erreichen einer partiellen Remission (n=7) 4 Monate (Bereich: 1 – 12 Monate). Eine komplette Remission erreichten noch 5 Patienten in dieser Therapiegruppe im Median von 15 Monaten (Bereich: 1 – 36 Monate). Patienten ohne Therapieansprechen in dieser Gruppe wurden durchschnittlich nach 3,4 Monaten (Bereich: 2,1 – 8,4 Monate) auf eine neue cGvHD-Therapie umgestellt. Eine Progression der kutanen cGvHD trat in dieser Gruppe nicht auf.

In der Gruppe der dreifach kombinierten Therapie Everolimus mit Prednisolon und Mycophenolat betrug die mediane Zeit bis zur partiellen Remission (n=7) 2 Monate (Bereich: 1 – 4 Monate). Zwei Patienten erreichten noch eine komplette Remission nach einem Monat und fünf Monaten. Eine Progression trat bei zwei Patienten nach 120 Tagen respektive 4 Monaten und nach 269 Tagen respektive 8,8 Monaten ein.

In der Gruppe, die neben der dreifach kombinierten Therapie Everolimus mit Prednisolon und Mycophenolat noch ECP erhielten, lag die mediane Zeit einer zunächst erreichten partiellen Remission (n=5) bei 2 Monaten (Bereich: 1 – 5 Monate). Davon konnte bei zwei Patienten noch eine komplette Remission nach 9 und 36 Monaten verzeichnet werden. Eine Progression oder ein Nichtansprechen wurde in dieser Subpopulation bezogen auf die kutane cGvHD nicht beobachtet.

Im folgenden Abschnitt wird das Ansprechen der kutanen cGvHD zum Gesamtansprechen unter Everolimus dargestellt. Bei 6 Patienten (18,2%) mit einem Ansprechen der Everolimustherapie (CR: n=2, PR: n=4) bezüglich der kutanen cGvHD zeigte sich ein gemischtes Ansprechen hinsichtlich des organübergreifenden allgemeinen Ansprechens. Zudem zeigten 4 Patienten (12,1%) kein Ansprechen bezüglich ihrer kutanen cGvHD mit jedoch einem gemischten Ansprechen, Tabelle 23. Das organspezifische Ansprechen bei cGvHD der Haut mit Erreichen einer kompletten oder partiellen Remission korrelierte jedoch gut mit dem Erreichen einer kompletten und partiellen Remission unter Berücksichtigung des Gesamtansprechens (*Korrelation nach Spearman $r_s = 0,78$*).

Tabelle 23: Remissionsstatus der kutanen cGvHD und Gesamtansprechen

Gesamtansprechen (OR)	Therapieansprechen: cGvHD der Haut [n=33]			
	CR n	PR N	SD n	PD n
keine cGvHD CR	4			
milde cGvHD PR	3	1		
moderate cGvHD PR SD PD MR	1 2	6 2	 1 1 2	
schwere cGvHD SD PD MR		 2	3 2	 3
gesamt: CR PR SD PD MR	4 4 0 0 2	0 7 0 0 4	0 0 4 1 4	0 0 0 3 0

Legende: *Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR),
Patientenanzahl (n), chronische Graft-versus-Host-Erkrankung (cGvHD)*

Wird das Ansprechen der everolimushaltigen Therapie auf die kutane cGvHD innerhalb der jeweiligen Behandlungslinie beurteilt, stellt sich folgendes Ergebnis dar:

6 Patienten (18,2%, CR: n=2, PR: n=4) zeigten ein Ansprechen der kutanen cGvHD, bei der Everolimus in zweiter Therapielinie eingesetzt wurde. In dritter Behandlungslinie 5 Patienten (15,2%) mit einer kompletten Remission, in vierter Behandlungslinie 6 Patienten (18,2%, CR: n=2, PR: n=4) und in fünfter Behandlungslinie 3 Patienten (9,1%, CR: n=1, PR: n=2). Ein Ansprechen zeigte sich somit unabhängig von der Behandlungslinie, in der Everolimus eingesetzt wird ($p=0,292$), Tabelle 24.

Tabelle 24: Therapieansprechen der cGvHD der Haut innerhalb der Behandlungslinie

Schweregrad cGvHD der Haut: Therapiebeginn	Therapieansprechen: cGvHD der Haut [n=33]				
	CR n	PR n	SD n	PD n	Total n
milde kutane cGvHD					
Zweitlinientherapie	1			1	2
moderate kutane cGvHD					
Zweitlinientherapie	1	2	2	0	5
Drittlinientherapie	3	0	3	2	8
Viertlinientherapie	1	1	0	0	2
schwere kutane cGvHD					
Zweitlinientherapie	0	3	2	0	5
Drittlinientherapie	2	0	0	0	2
Viertlinientherapie	1	3	1	0	5
Fünftlinientherapie	1	2	1	0	4
milde und moderater und schwere kutane cGvHD					
Zweitlinientherapie	2	4	5	1	12
Drittlinientherapie	5	0	3	2	10
Viertlinientherapie	2	4	1	0	7
Fünftlinientherapie	1	2	1	0	4

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Patientenanzahl (n), chronische Graft-versus-Host-Erkrankung (cGvHD)*

5.8.2 Therapieansprechen der cGvHD bei weiteren Organen (MSH, Auge, GIT, Leber, Lunge, Genitaltrakt und aktiver Bewegungsapparat)

Zusammenfassend soll aufgrund des umfänglichen Datenumfanges das organbezogene Therapieansprechen von Mundschleimhaut (MSH), Auge, Gastrointestinaltrakt (GIT), Leber, Lunge und aktivem Bewegungsapparat dargestellt werden. Zu beachten ist, dass die retrospektive Datenanalyse nur die dokumentierten Organbefälle hinsichtlich des Therapieansprechens unter Everolimus auswerten konnte. Das organbezogene Ansprechen wird in Tabelle 25 dargestellt. Dabei wird das Ansprechen der Haut nochmals im Überblick mit angegeben.

Tabelle 25: Organbezogenes Ansprechen

Organ	Anzahl n	OR (CR+PR) n [%]	MR n [%]	CR n [%]	PR n [%]	SD n [%]	PD n [%]	Ansprechzeit* Monate ^{Median} [Bereich]
Haut	33	21 [63,6%]		10 [30,3%]	11 [33,3%]	9 [27,3%]	3 [9,1%]	2 [1 - 24] CR: 10,5 [2 - 39]
MSH	26	17 [61,6%]		10 [38,5%]	6 [23,1%]	9 [34,6%]	1 [3,8%]	3 [1 - 33] CR: 5 [1 - 33]
Augen	30	9 [30,0%]		4 [13,3%]	5 [16,7%]	17 [56,7%]	4 [13,3%]	6 [3 - 36] CR: 5,5 [3 - 30]
GIT	6	2 [33,3%]		2 [33,3%]	0	3 [50,0%]	1 [16,7%]	1 und 2
Leber	20	9 [45,0%]		6 [30,0%]	3 [15,0%]	11 [55,0%]	0	3 [1 - 18] CR: 3 [2 - 5]
Lunge	10	3 [30,0%]		3 [30,0%]	0	7 [70,0%]	0	5 [2 - 15] CR: 9 [2 - 15]
Genital	2	k.A.		k.A.	k.A.	1	1	k.A.
BA	5	3 [60,0%]		2 [40,0%]	1 [20,0%]	1 [20,0%]	1 [20,0%]	3 [3 - 6] CR: 3 und 33
Gesamt	38	17 [44,7%]	11 [28,9%]	4 [10,5%]	13 [34,2%]	6 [15,8%]	4 [10,5%]	3 [1 - 9] CR: 22,5 [2 - 39]

Bemerkung: *...Angabe zur medianen Ansprechzeit mit mindestens einer PR und Angabe zum Erreichen einer CR im Median

Legende: Patientenanzahl (n), Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR), Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD), Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD), Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR), Overall Response = Allgemeines Ansprechen (OR) = CR + PR, Mundschleimhaut (MSH), Gastrointestinaltrakt (GIT), Bewegungsapparat (BA), keine Angabe (k.A.)

Unter Anwendung von Prednisolon bei allen untersuchten Patienten sowie der bei einem Teil der Patienten eingesetzten immunsuppressiven Medikamentes Mycophenolat wurde das organbezogene Ansprechen hinsichtlich der Dosisreduktion von Prednisolon und MMF geprüft und die Ergebnisse zusammenfassend in Tabelle 26 dargestellt.

Tabelle 26: Dosisreduktion von Prednisolon und Mycophenolat hinsichtlich des organbezogenen Ansprechens

Organ	n	OR_{CR+PR} n [%]	Dosisreduktion von Prednisolon n=Patienten mit OR/Patienten mit Prednisolonbehandlung %-uale Dosisreduktion [Bereich]	Dosisreduktion von MMF n=Patienten mit OR/ Patienten mit MMF-Behandlung %-uale Reduktion [Bereich]
Haut	33	21 [63,6%]	n=21/33 19,2% [0 – 91,3]	n=12/21 80,7% [0 – 100]
MSH	26	16 [61,6%]	n=16/26 19,2% [0 – 76,0]	n=11/15 50,0% [0 – 100]
Augen	30	9 [30,0%]	n=9/30 40,0% [0 – 76,0]	n=2/16 0% und 100%
GIT	6	2 [33,3%]	n=2/6 17,3% und 91,3%	n=1/3 100%
Leber	20	9 [45,0%]	n=6/20 8,7% [0 – 60,0]	n=4/11 0% [0 – 100]
Lunge	10	3 [30,0%]	n=3/10 40% [17,3 – 91,3]	n=1/4 100%
Genital	2	n.e.	n.e.	n.e.
BA	5	3 [60,0%]	n=3/5 0% [0-76,0]	n=1/2 0%

*Legende: Patientenanzahl (n), Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Overall Response = Allgemeines Ansprechen (OR) = CR + PR, Mundschleimhaut (MSH),
Gastrointestinaltrakt (GIT), Bewegungsapparat (BA), nicht evaluiert (n.e.)*

5.9 Beeinflussung der Lymphozytensubpopulationen unter Everolimus

Eine quantitative Charakterisierung der zellulären Immunität ermöglicht die Messung der Lymphozytensubpopulationen, dem sogenannten Immunstatus. Eine Spezifizierung hinsichtlich der Zellfunktion kann damit jedoch nicht ausreichend beschrieben werden. Zu den entsprechenden Evaluationszeitpunkten wurde der zelluläre Immunstatus mit der Anzahl der Lymphozyten, der CD4+CD3+T-Lymphozyten, der CD8+CD3+T-Lymphozyten, der CD4/CD8-Ratio der T-Lymphozyten, der CD19+B-Lymphozyten und der CD56+NK-Zellen dokumentiert. Spätestens nach einer Behandlungszeit von 24 Monaten mit Everolimus lag der Anteil der Patienten, die noch Everolimus erhielten bezüglich der gruppenbildenden Variablen Ansprechen und eingesetzte Ko-Immunsuppressiva unter drei Patienten. Deshalb wurde der Verlauf der einzelnen angegebenen Lymphozytensubpopulationen in Abhängigkeit der Behandlungszeit nur bis 24 Monate im Folgenden dargestellt. Da die individuelle Behandlungszeit bei den untersuchten Patienten sehr variiert, wurde zudem die Lymphozytensubpopulation zu Beginn der Everolimustherapie mit der zum Zeitpunkt der Beendigung der Everolimusbehandlung untersucht. Die Ergebnisse zu den Gesamtlymphozytenzahlen werden aufgrund der zu begrenzenden Datendarstellung in dieser Arbeit nicht dargestellt.

5.9.1 Lymphozytäre Zellreihen in Abhängigkeit vom Behandlungsansprechen

Interessant erscheint die Frage, ob sich der Anteil der Lymphozytensubpopulationen auf das Behandlungsansprechen auswirkt. Dabei wurden drei Gruppen gebildet: eine erste Gruppe mit Erreichen einer CR oder PR, eine zweite Gruppe mit Erreichen eines MR und die dritte Gruppe mit Erreichen einer SD oder einer PD.

In Abhängigkeit vom Ansprechen zeigten sich hinsichtlich der einzelnen Lymphozytensubpopulationen im medianen Verlauf keine signifikanten Unterschiede. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass die Gruppe, welche unter Everolimus keinen klinischen Response zeigte, SD oder PD, nur eine kurze Beobachtungszeit bei maximaler Behandlungszeit im Median von 6 Monaten

aufweist. In den Abbildungen 19 bis 23 sind graphisch die Verläufe der Lymphozytensubpopulationen dargestellt.

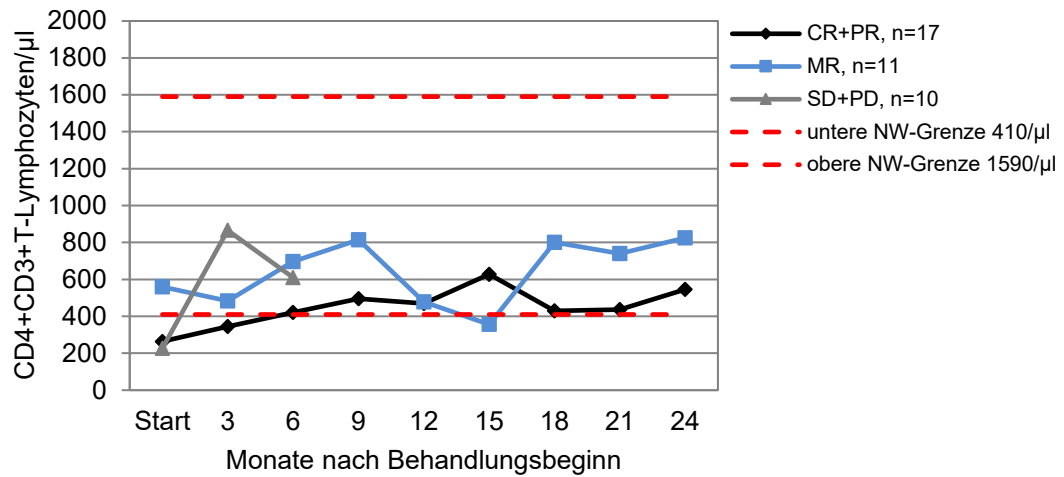


Abbildung 19: Mediane CD4+T-Lymphozytenanzahl während der Everolimusbehandlung in Abhängigkeit vom Behandlungsansprechen

Legende: *Patientenanzahl (n), Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR), Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR), Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD), Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD), Normwert (NW)*

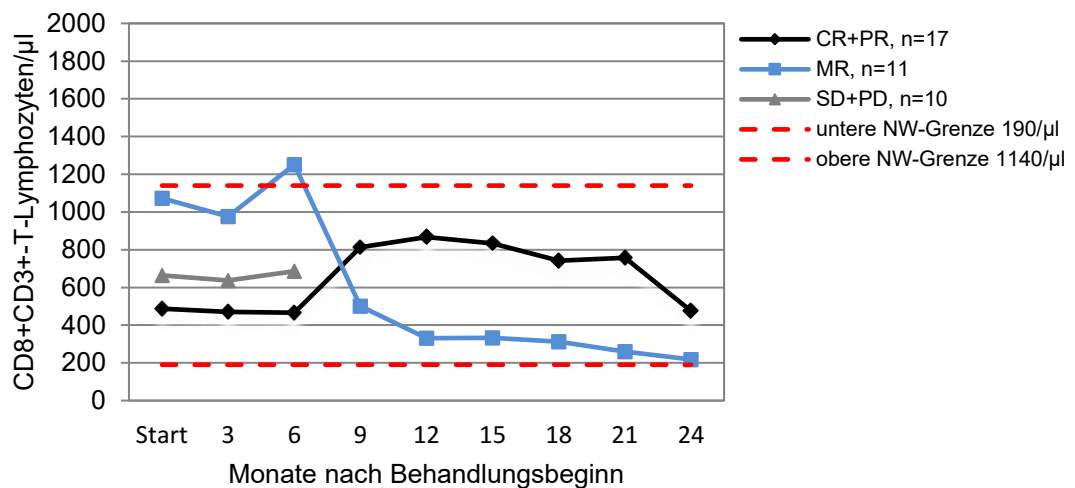


Abbildung 20: Mediane CD8+T-Lymphozytenanzahl während der Everolimusbehandlung in Abhängigkeit vom Behandlungsansprechen

Legende: *Patientenanzahl (n), Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR), Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR), Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD), Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD), Normwert (NW)*

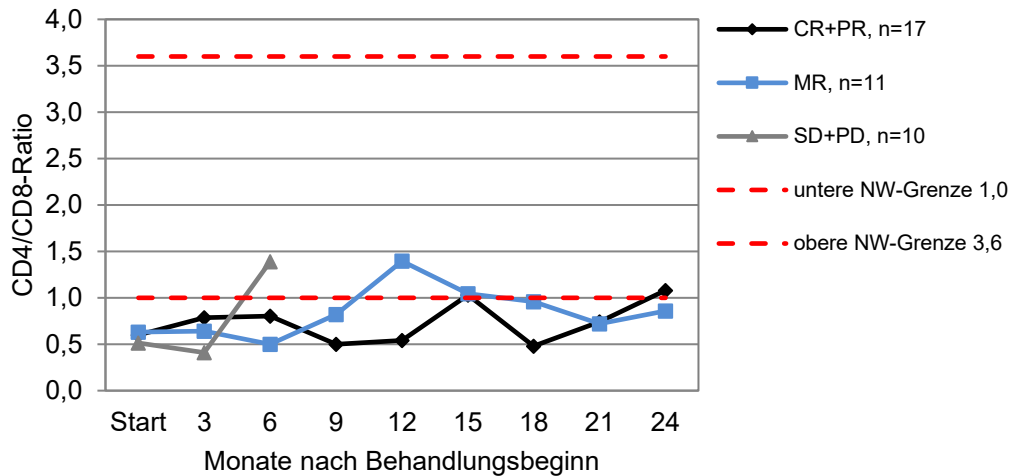


Abbildung 21: Mediane CD4/CD8-Ratio während der Everolimusbehandlung in Abhängigkeit vom Behandlungsansprechen

Legende: Patientenanzahl (n), Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR), Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR), Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD), Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD), Normwert (NW)

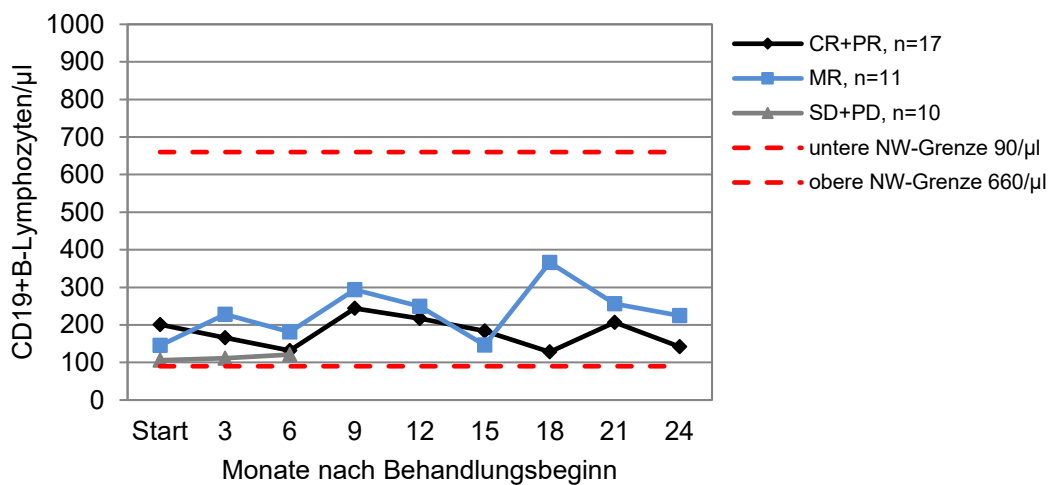


Abbildung 22: Mediane CD19+B-Lymphozytenanzahl während der Everolimusbehandlung in Abhängigkeit vom Behandlungsansprechen

Legende: Patientenanzahl (n), Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR), Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR), Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD), Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD), Normwert (NW)

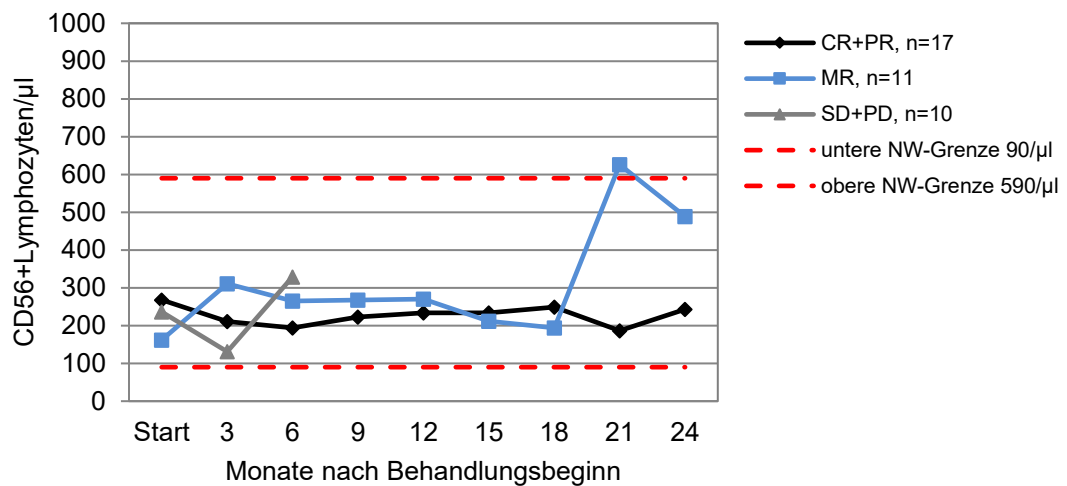


Abbildung 23: Mediane CD56+NK-Lymphozytenanzahl während der Everolimusbehandlung in Abhängigkeit vom Behandlungsansprechen

Legende: Patientenanzahl (n), Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR), Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR), Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD), Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD), Normwert (NW)

In einer weiterführenden Untersuchung der Lymphozytensubpopulationen zeigten sich zum Zeitpunkt des Therapiebeginns im Vergleich zum Beobachtungszeitende hinsichtlich der gruppenbildenden Variable Ansprechen keine signifikanten Unterschiede, Abbildungen 24 bis 28. Die unterbrochenen roten Linien zeigen den unteren und oberen Normwertbereich an.

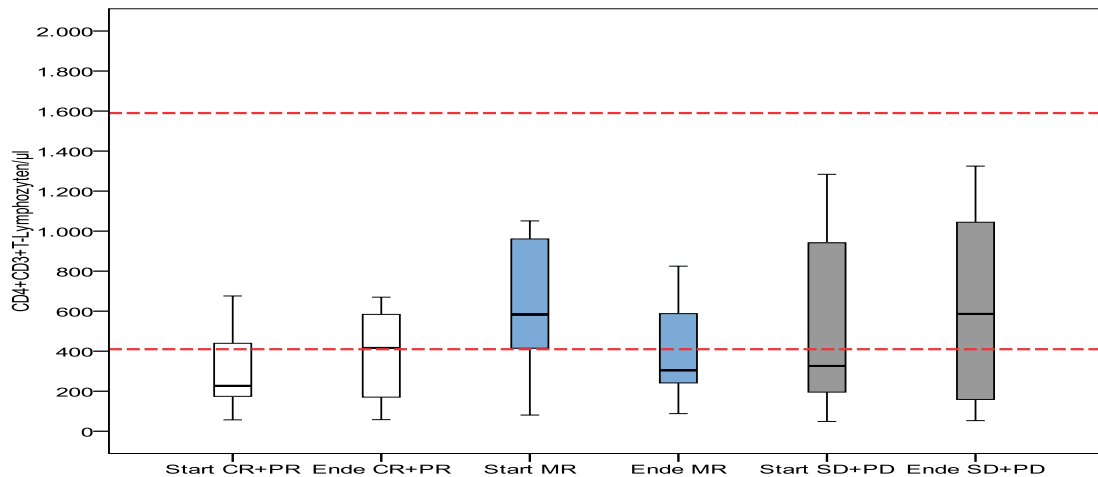


Abbildung 24: CD4+T-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende in Abhängigkeit vom Ansprechen ($p_{CD4CR/PR}=0,133$; $p_{CD4MR}=0,541$; $p_{CD4SD/PD}=0,398$)

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
obere und untere Normwertgrenze (---)*

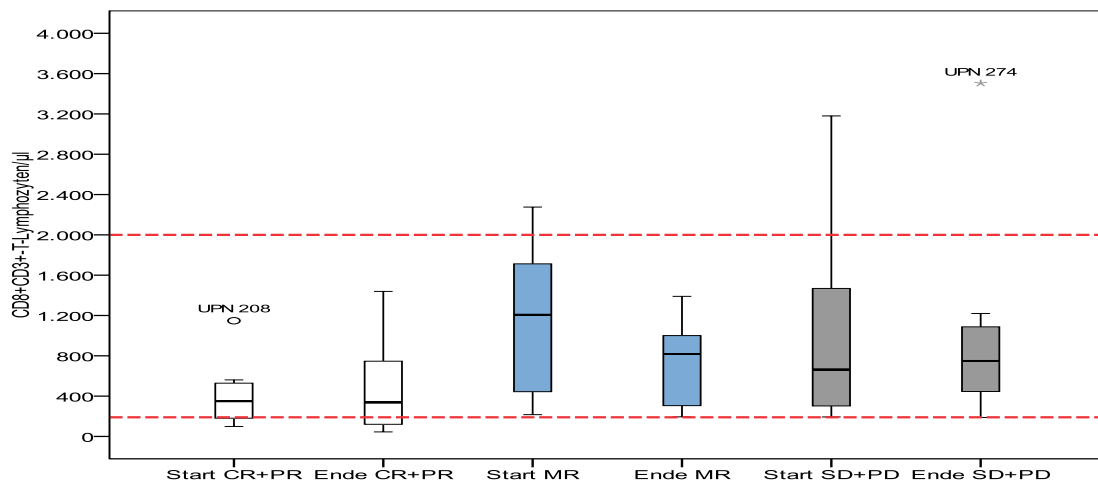


Abbildung 25: CD8+T-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende in Abhängigkeit vom Ansprechen ($p_{CD8CR/PR}=0,925$; $p_{CD8MR}=0,139$; $p_{CD8SD/PD}=0,184$)

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Unique Patient Number = eindeutige Patientennummer (UPN)
obere und untere Normwertgrenze (---)*

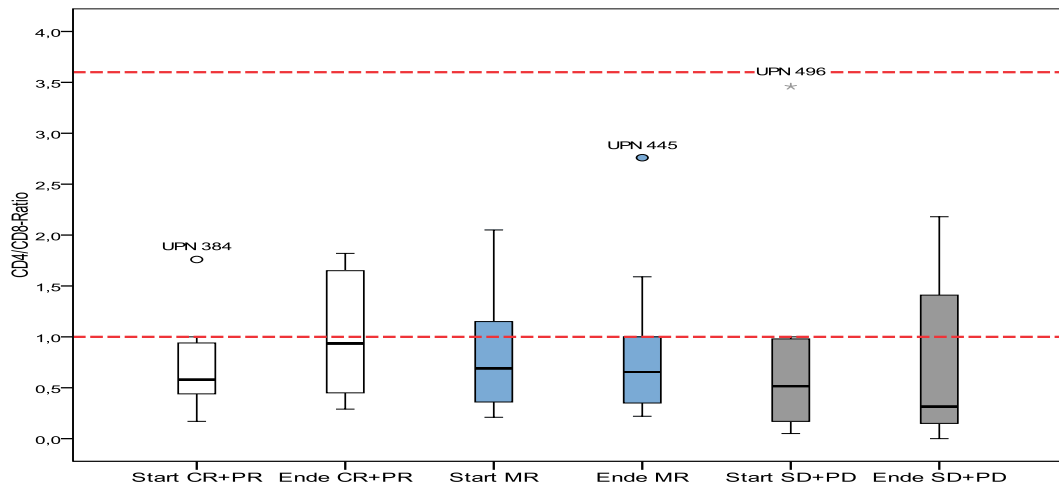


Abbildung 26: CD4/CD8-Ratio mit Therapiebeginn und -ende in Abhängigkeit vom Ansprechen ($p_{\text{RatioCR/PR}}=0,068$; $p_{\text{RatioMR}}=0,068$; $p_{\text{RatioSD/PD}}=0,068$)

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD),
Unique Patient Number = eindeutige Patientennummer (UPN)
obere und untere Normwertgrenze (---)*

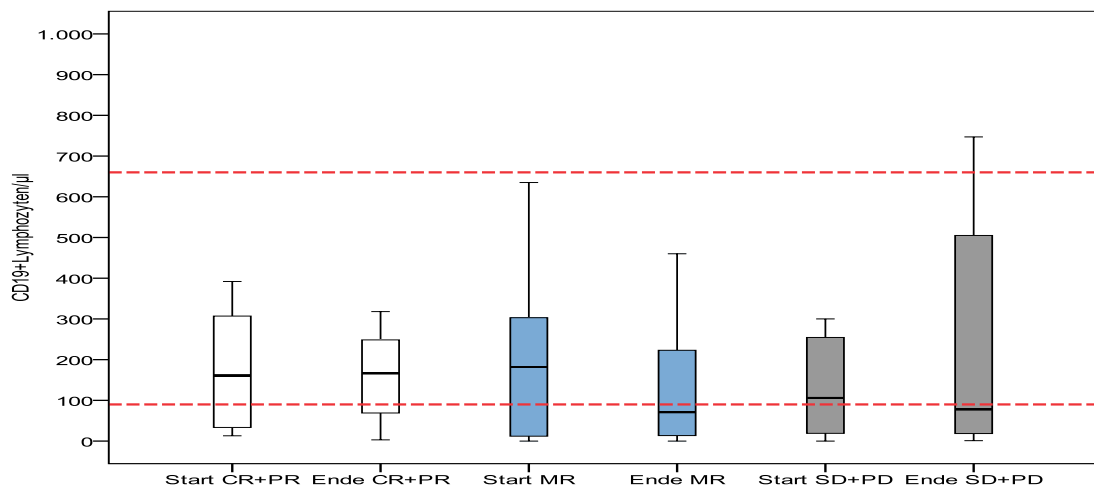


Abbildung 27: CD19+B-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende in Abhängigkeit vom Ansprechen ($p_{\text{CD19CR/PR}}=0,074$; $p_{\text{CD19MR}}=0,374$; $p_{\text{CD19SD/PD}}=0,943$)

*Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD)
obere und untere Normwertgrenze (---)*

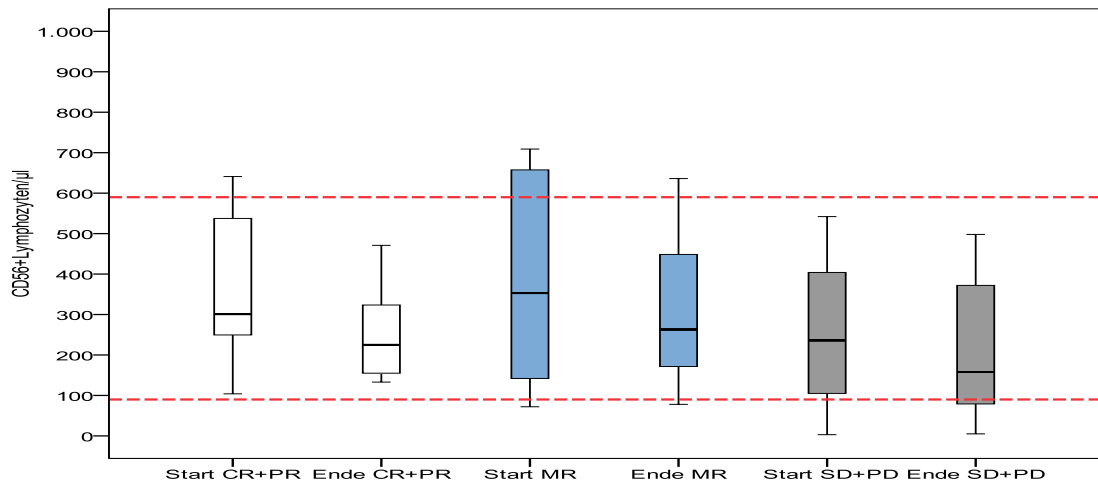


Abbildung 28: CD56+NK-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende in Abhängigkeit vom Ansprechen ($p_{CD56CR/PR}=0,407$; $p_{CD56MR}=0,444$; $p_{CD56SD/PD}=0,267$)

Legende: Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR), Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR), Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD), Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD) obere und untere Normwertgrenze (---)

5.9.2 Lymphozytäre Zellreihen in Abhängigkeit von den eingesetzten Ko-Immunsuppressiva

Ein weiteres bestimmendes Merkmal, die die quantitativen Anteile der Lymphozytensubpopulationen als auch das CD4/CD8-T-Lymphozytenverhältnis im Verlauf der Everolimustherapie beeinflussen könnte, ist die entsprechende Immunsuppressionskombination. Jedoch unterschied sich der mediane Verlauf nicht signifikant in Abhängigkeit von der eingesetzten Immunsuppressionskombination Everolimus (RAD001) und Prednisolon (PSL), RAD001 in Kombination mit PSL und MMF oder RAD001 mit PSL, MMF und ECP, Abbildungen 29 bis 33.

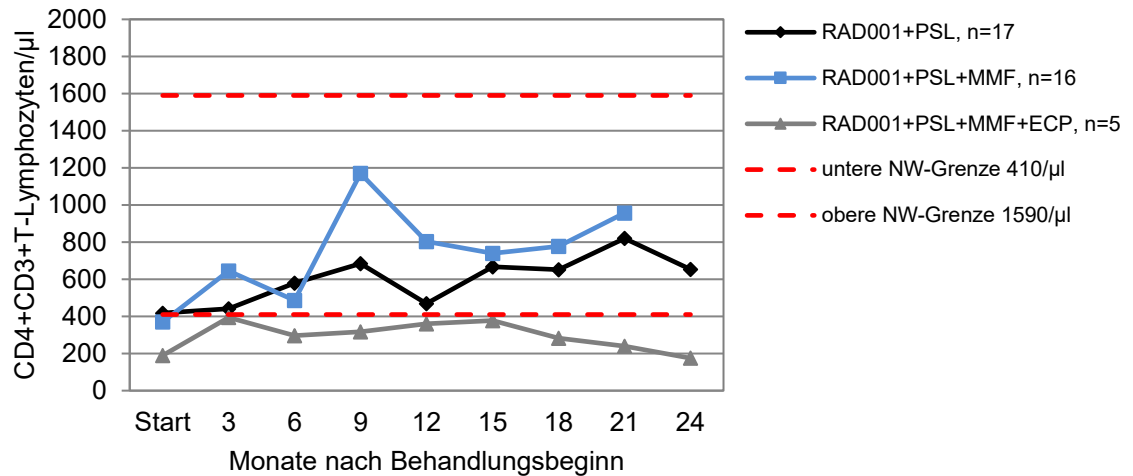


Abbildung 29: Mediane CD4+T-Lymphozytenzahl während der Everolimus-therapie abhängig der Immunsuppressionskombination

Legende: Patientenanzahl (n), Everolimus (RAD001), Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP), Normwert (NW)

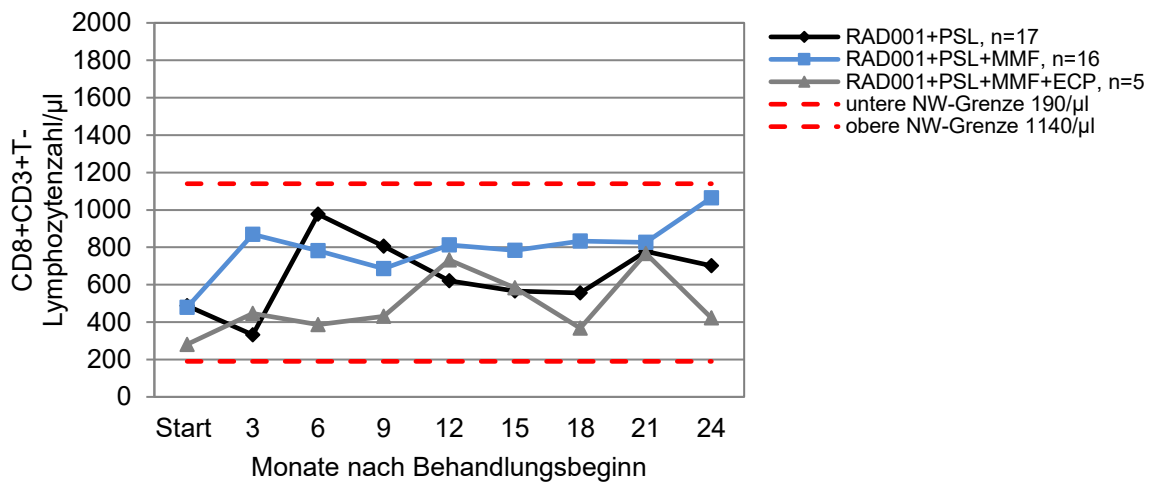


Abbildung 30: Mediane CD8+T-Lymphozytenzahl während der Everolimus-therapie abhängig der Immunsuppressionskombination

Legende: Patientenanzahl (n), Everolimus (RAD001), Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP), Normwert (NW)

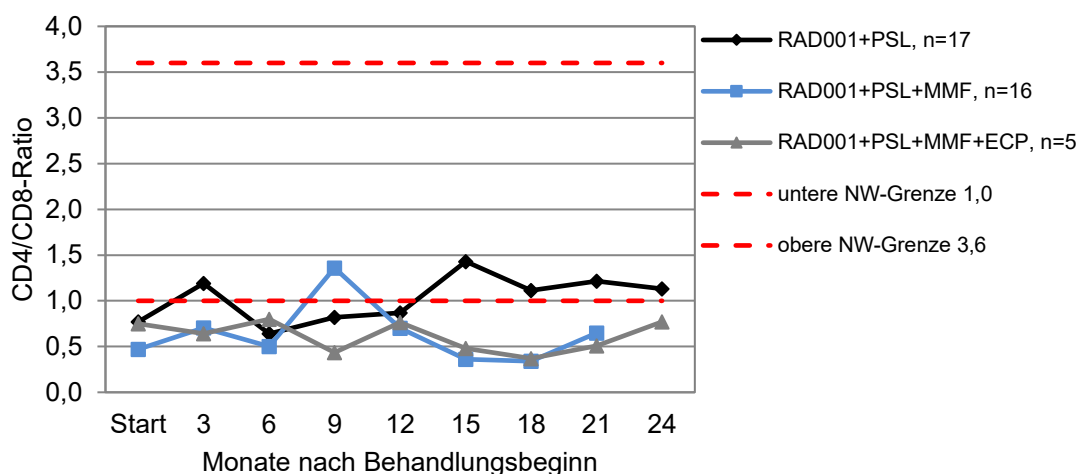


Abbildung 31: Mediane CD4/CD8-Ratio während der Everolimustherapie abhängig der Immunsuppressionskombination

Legende: Patientenanzahl (n), Everolimus (RAD001), Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP), Normwert (NW)

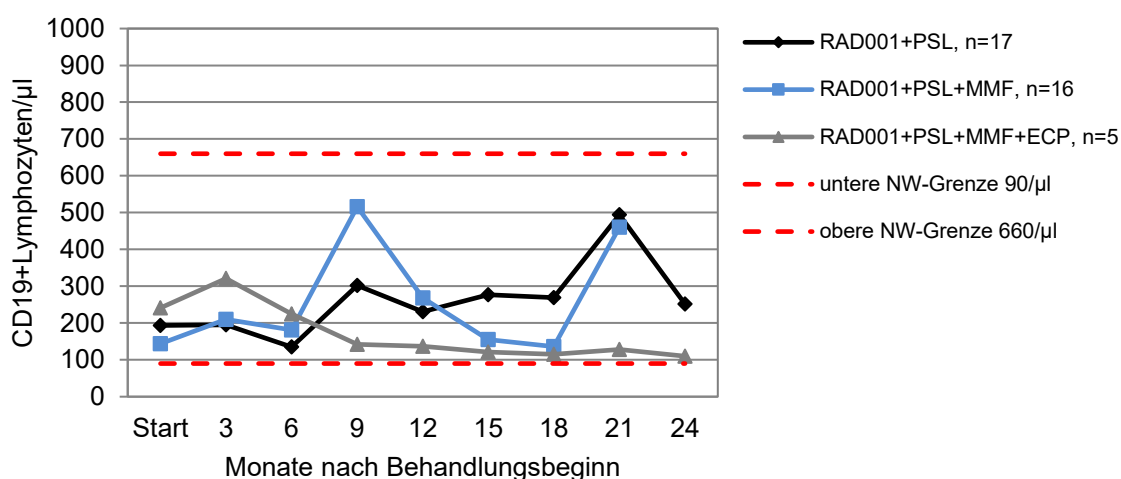


Abbildung 32: Mediane CD19+B-Lymphozytenzahl während der Everolimustherapie abhängig der Immunsuppression

Legende: Patientenanzahl (n), Everolimus (RAD001), Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP), Normwert (NW)

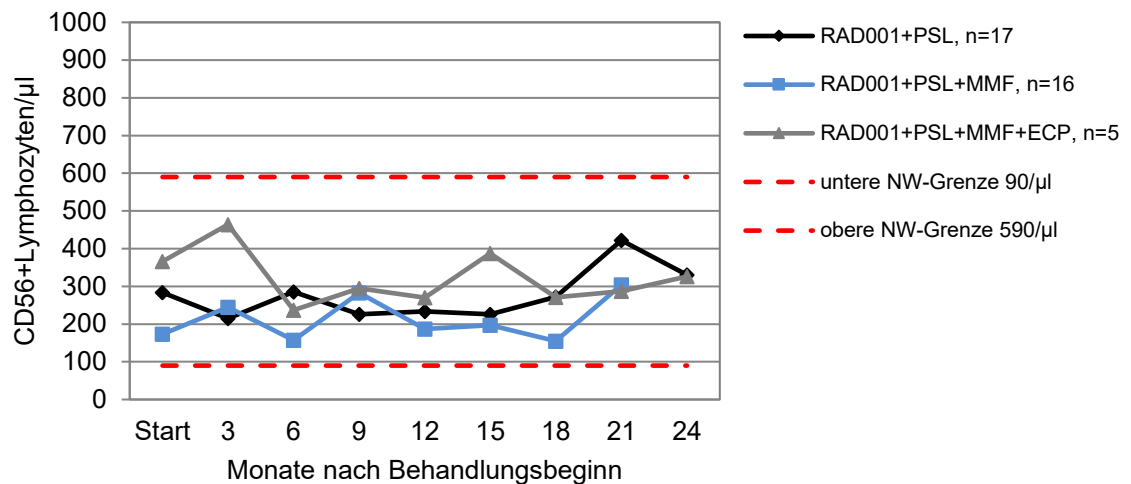


Abbildung 33: Mediane CD56+NK-Lymphozytenzahl während der Everolimus-therapie abhängig der Immunsuppression

Legende: Everolimus (RAD001), Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP), Normwert (NW), Patientenzahl (n)

Ebenso zeigten sich in den Untersuchungen der Lymphozytensubpopulationen zum Zeitpunkt des Therapiebeginns im Vergleich zum Beobachtungszeitende hinsichtlich der gruppenbildenden Variable Immunsuppressionskombination keine signifikanten Unterschiede, Abbildungen 34 bis 38. Die unterbrochenen roten Linien markieren die untere und obere Normwertgrenze an.

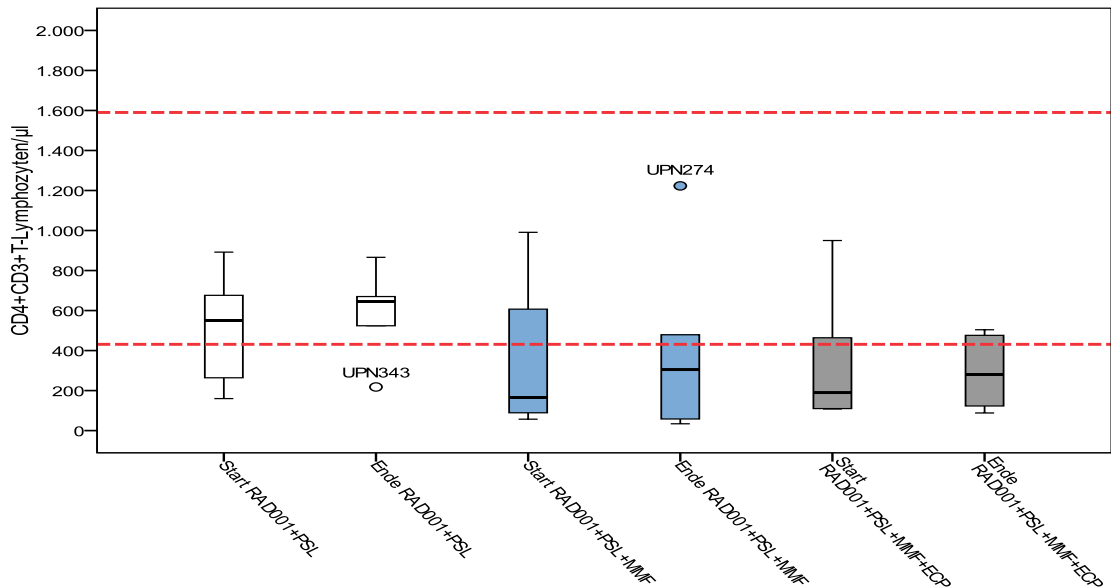


Abbildung 34: CD4+T-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende abhängig zur Immunsuppressionskombination ($p_{\text{CD4RAD001+PSL}}=1,000$; $p_{\text{CD4RAD001PSL+MMF}}=0,496$; $p_{\text{CD4RAD001+PSL+MMF+ECP}}=0,893$)

Legende: Everolimus (RAD001)), Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP), Unique Patient Number = eindeutige Patientennummer (UPN), obere und untere Normwertgrenze (---)

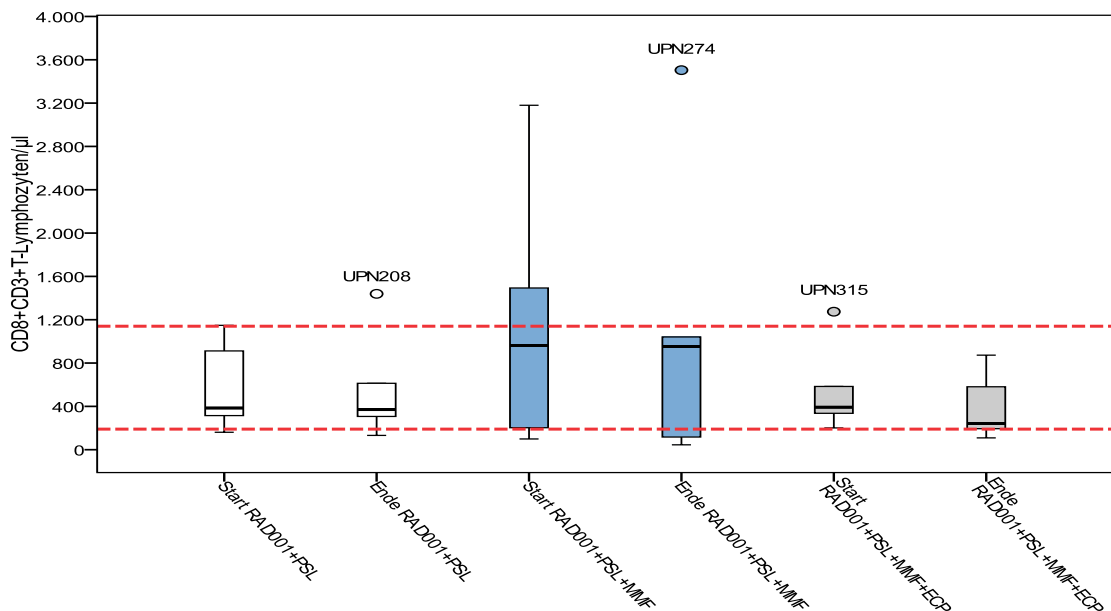


Abbildung 35: CD8+T-Lymphozyten mit Therapiebeginn und -ende abhängig zur Immunsuppressionskombination ($p_{\text{CD8RAD001+PSL}}=0,427$; $p_{\text{CD8RAD001PSL+MMF}}=0,909$; $p_{\text{CD8RAD001+PSL+MMF+ECP}}=0,381$)

Legende: Everolimus (RAD001)), Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP), Unique Patient Number = eindeutige Patientennummer (UPN), obere und untere Normwertgrenze (---)

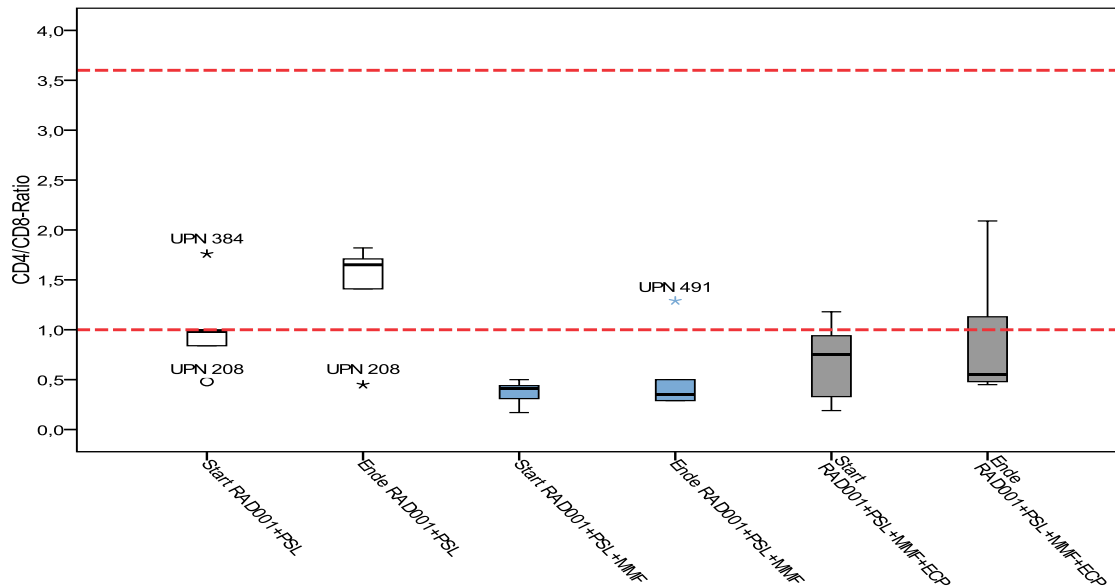


Abbildung 36: CD4/CD8-Ratio mit Therapiebeginn und -ende abhängig zur Immunsuppressionskombination ($p_{\text{RatioRAD001+PSL}}=0,955$; $p_{\text{RatioRAD001PSL+MMF}}=0,155$; $p_{\text{RatioRAD001+PSL+MMF+ECP}}=0,345$)

Legende: Everolimus (RAD001), Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP), Unique Patient Number = eindeutige Patientennummer (UPN), obere und untere Normwertgrenze (---)

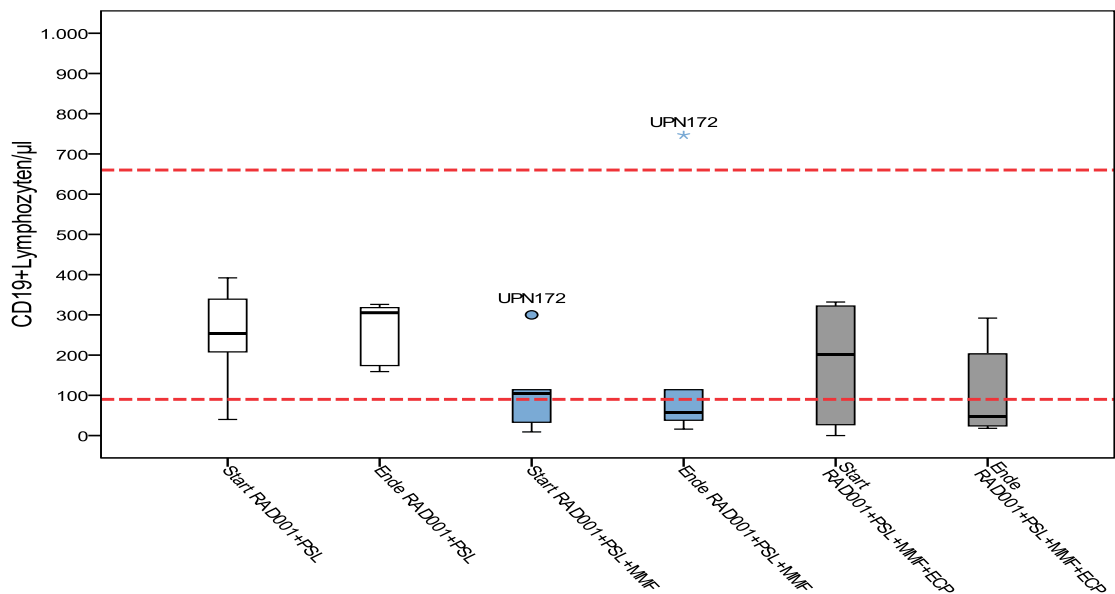


Abbildung 37: CD19+B-Lymphozyten mit Therapiebeginn und- ende abhängig der Immunsuppressionskombination ($p_{\text{CD19RAD001+PSL}}=0,125$; $p_{\text{CD19RAD001PSL+MMF}}=0,917$; $p_{\text{CD19RAD001+PSL+MMF+ECP}}=0,500$)

Legende: Everolimus (RAD001), Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP), Unique Patient Number = eindeutige Patientennummer (UPN), obere und untere Normwertgrenze (---)

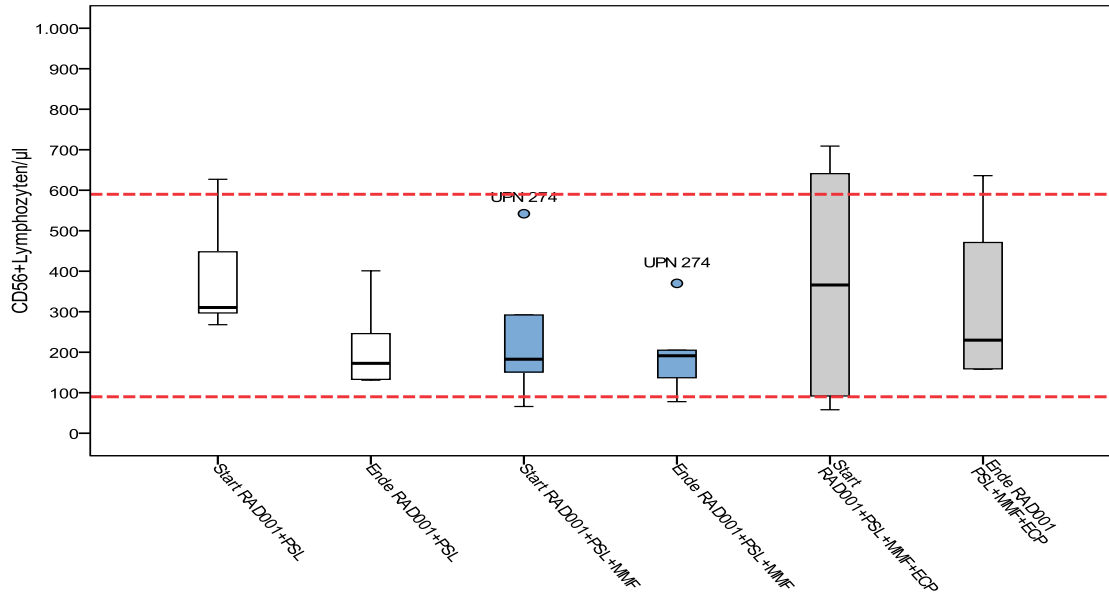


Abbildung 38: CD56+NK-Lymphozyten mit Therapiebeginn und- ende abhängig der Immunsuppressionskombination ($p_{\text{CD56RAD001+PSL}}=0,427$; $p_{\text{CD56RAD001PSL+MMF}}=0,334$; $p_{\text{CD56RAD001+PSL+MMF+ECP}}=0,345$)

Legende: Everolimus (RAD001), Prednisolon (PSL), Mycophenolat (MMF), Extrakorporale Photopherese (ECP), Unique Patient Number = eindeutige Patientennummer (UPN), obere und untere Normwertgrenze (---)

5.10 Beeinflussung der Immunglobulinspiegel unter Everolimus

Everolimus hemmt auch die Proliferation von B-Lymphozyten in einem späten Stadium des Zellzyklus. Dokumentiert wurden die Immunglobulinspiegel IgG, IgM und IgA über die gesamte Behandlungszeit mit Everolimus. Die Bestimmung der Immunglobulinspiegel wurde bei einigen Patienten beeinflusst durch eine Substitution von polyvalenten Immunglobulinen. Die Indikation wurde bei erniedrigtem IgG-Spiegel unter 5,0 g/l mit Vorliegen einer Infektionshäufung durch den Arzt der SZT-Ambulanz gestellt. Zwölf Patienten (31,6%) erhielten bereits Immunglobuline vor Beginn der Everolimustherapie, davon 6 Patienten mit der Komedikation von Prednisolon und MMF und 3 Patienten mit den Ko-Therapeutika Prednisolon, MMF und ECP. Niedrige Immunglobulinspiegel IgG korrelierten signifikant mit einer erniedrigten absoluten B-Lymphozytenzahl/ μ l Blut zu Beginn der Everolimustherapie, Abbildung 39.

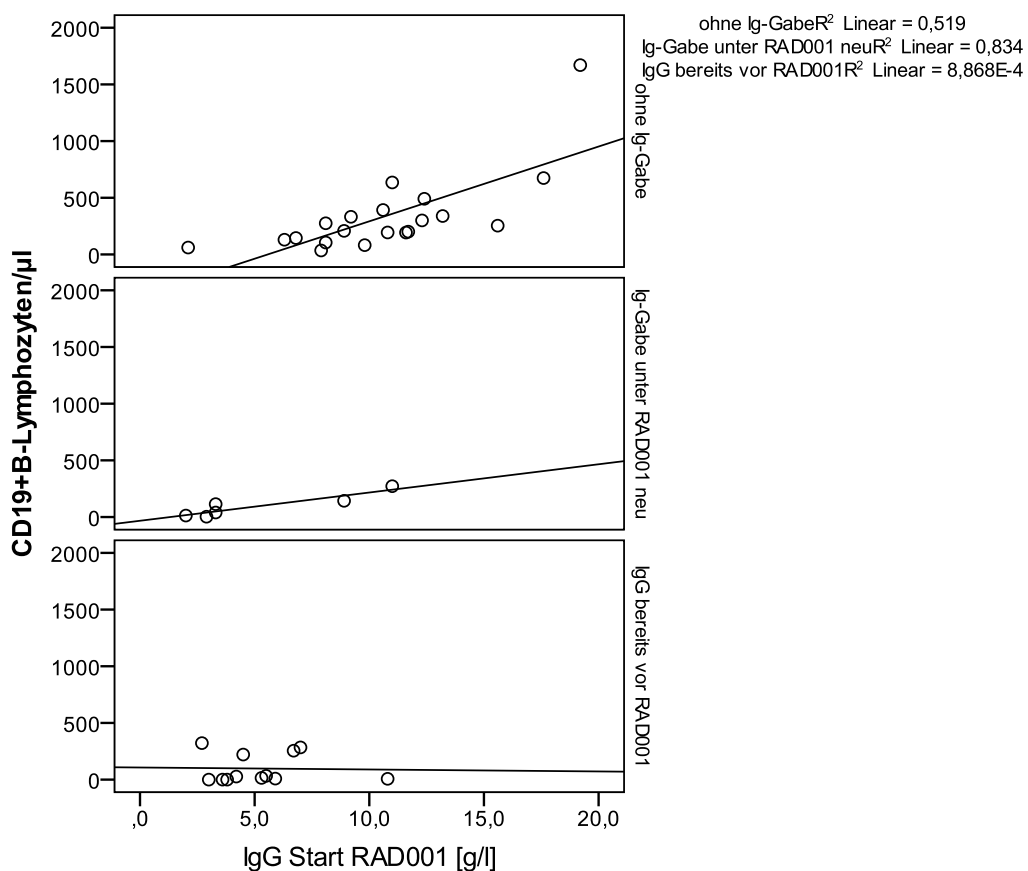


Abbildung 39: Korrelation der CD19+B-Lymphozytenzahl zum IgG-Spiegel mit Therapiebeginn von Everolimus

Legende: Everolimus (RAD001), Immunglobulin G (IgG)

Unter Berücksichtigung der polyvalenten Immunglobulinsubstitution bereits vor Everolimustherapie oder erst neu beginnend während der Everolimustherapie oder ohne Immunglobulingabe zeigte sich, dass das Ansprechen nicht durch den Immunglobulinspiegelverlauf beeinflusst wird, Abbildung 40.

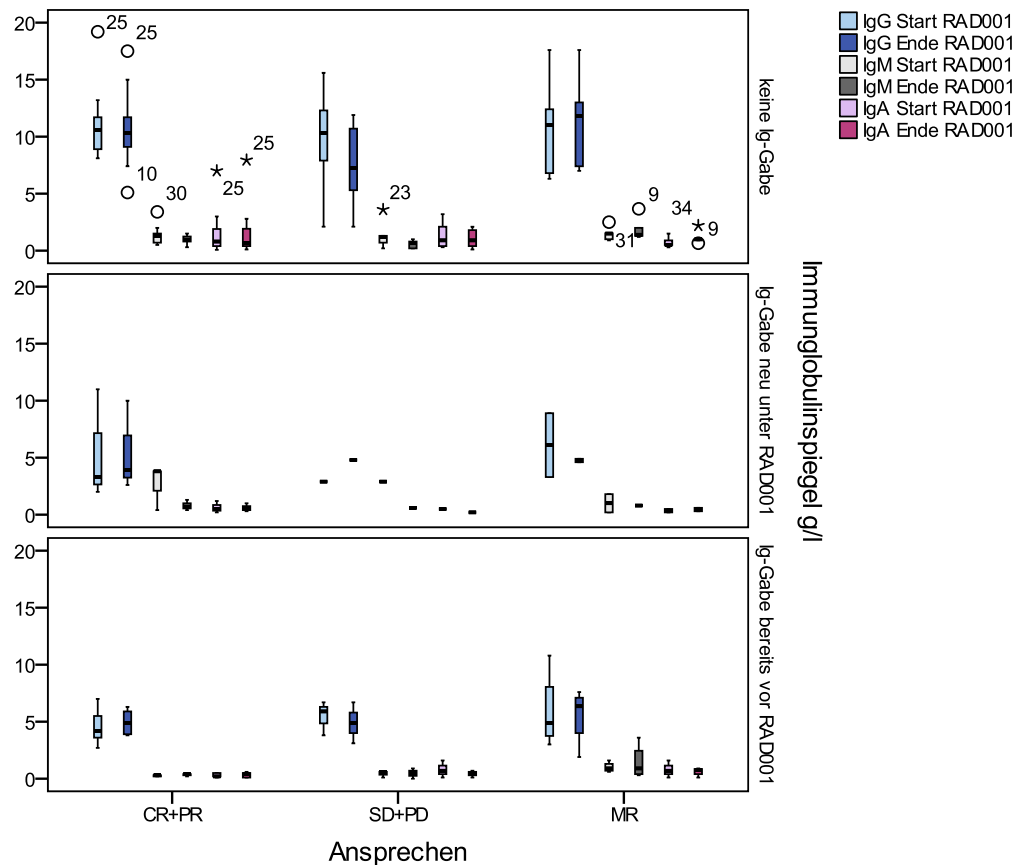


Abbildung 40: Ansprechen und Immunglobulinspiegel IgG, IgM und IgA

Legende: Everolimus (RAD001), Immunglobulin G (IgG), Immunglobulin M (IgM), Immunglobulin A (IgA), Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR), Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD), Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD), Mixed Response = Gemischtes Ansprechen (MR)

5.11 Infektiologische Komplikationen unter der Everolimustherapie

5.11.1 Art und Häufigkeit der aufgetretenen Infektionen

Unter der Behandlung mit Everolimus traten bei 28 Patienten (73,7%) eine oder mehrere Infektionen auf. Insgesamt konnten in der Gesamtpopulation 38 Infektionsereignisse beobachtet werden. Dabei wurden klinisch dokumentierte Infektionen und Infektionen mit mikrobiologischen respektive virologischen Nachweis analysiert. Acht Infektionen (21,0%) waren bakteriellen Ursprungs, zwölf Infektionen (31,6%) hatten eine virale Genese, zwei mykotische Infektionen (5,3%) traten auf und sechzehn (42,1%) konnten einer bakteriellen oder viralen Genese nicht eindeutig zugeordnet werden. Unter Berücksichtigung der „Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), Version 4.0“, erfolgte die Einteilung nach dem Schweregrad der einzelnen Infektion. Ein Grad 1 mit milder Symptomatik lag bei zwei Infektionen (5,3%), einunddreißig Infektionen (81,6%) waren mit moderaten Ausprägungsgrad (Grad 2), die einer lokalen und/oder oralen systemischen antiinfektiösen Therapie bedurften, drei Infektionen (7,9%) erforderten bei schweren Ausprägungsgrad eine Hospitalisation (Grad 3) und erhielten eine intravenöse Therapie, eine lebensbedrohliche Infektion in Form einer Sepsis (2,6%), Grad 4, konnte erfolgreich behandelt werden und eine pulmonale Aspergillose (2,6%) verlief tödlich (Grad 5). In Tabelle 27 sind die Infektionsereignisse mit dem CTCAE-Schweregrad zusammenfassend dargestellt. Die medianen Everolimusspiegel von Everolimus waren signifikant höher bei den Patienten mit einer CTCAE-Schweregrad 3 - 5 einer Infektion im Vergleich zu den Patienten ohne Infektionsereignisse (3,5 ng/ml versus 2,1 ng/ml, $p=0,04$).

Tabelle 27: Gesamtübersicht über die aufgetretenen Infektionen mit der Spezifikation und dem CTCAE-Schweregrad

Infektionsart	n_{Ereignis} [%]	Spezifikation für die Diagnose	CTCAE-Schweregrad 1 - 5
Bakterielle Infektionen: <ul style="list-style-type: none"> - Stomatitis aphtosa - Otitis media - Pneumonie - Gastroenteritis - Harnwegsinfektionen - Sepsis - Wundinfektion Unguis incarnatus 	8 [21,0%] <ul style="list-style-type: none"> 1 1 1 1 2 1 1 	<ul style="list-style-type: none"> Citrobacter freundii Rachenspüle klinisch gesichert, erfolgreiche antibiotische Therapie klinisch gesichert, erfolgreiche antibiotische Therapie Clostridien enterotoxin Stuhlkultur Escherichia coli n=1, Escherichia faecalis n=1 Blutkultur Wundabstrich Escherichia coli 	<ul style="list-style-type: none"> 2 (moderat) 2 (moderat) 3 (schwer) 2 (moderat) 2 (moderat) 4 (lebensbedrohlich-schwer) 2 (moderat)
Virale Infektionen: <ul style="list-style-type: none"> - CMV-Reaktivierung - Stomatitis aphtosa - Herpes labialis - Herpes zoster (VZV) - Gastroenteritis 	12 [31,6%] <ul style="list-style-type: none"> 1 5 2 2 2 	<ul style="list-style-type: none"> Antigenämie (pp65) HSV1-Nachweis Rachenspüle-PCR klinisch gesichert, erfolgreiche antivirale Therapie klinisch gesichert, erfolgreiche antivirale Therapie Norovirus Stuhlkultur 	<ul style="list-style-type: none"> 3 (schwer) 2 (moderat) 1 (mild) 2 (moderat) 2 (moderat)
Mykotische Infektionen: <ul style="list-style-type: none"> - Pulmonale Aspergillose - Taenia pedis 	2 [5,3%] <ul style="list-style-type: none"> 1 1 	<ul style="list-style-type: none"> CT-bildmorphologisch gesichert klin. gesichert, erfolgreiche antimykotische Therapie 	<ul style="list-style-type: none"> 5 (lebensbedrohlich-Tod) 2 (moderat)
Nicht sicher zuordnende Infektion <ul style="list-style-type: none"> - Atemwegsinfektionen (außer Pneumonie) - Fieber unklarer Genese 	16 [42,1%] <ul style="list-style-type: none"> 15 1 	<ul style="list-style-type: none"> klinisch gesichert, kalkuliert antibiotische Therapie differentialdiagnostische Untersuchung erfolgt 	<ul style="list-style-type: none"> 2 (moderat) 3 (schwer)

Legende: Ereignisanzahl (n_{Ereignis}), Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), Version 4.0, Herpes-simplex-Virus Typ 1 (HSV1), Cytomegalievirus (CMV), Phosphoprotein 65 (pp65), Varizella-Zoster-Virus (VZV), Polymerase-Kettenreaktion (PCR), Computertomographie (CT)

5.11.2 Cytomegalievirus - Reaktivierungen

In der untersuchten Patientenpopulation trat unter Behandlung mit Everolimus eine CMV-Reaktivierung bei einem Patienten mit einer Hochrisikokonstellation (Empfänger CMV IgG negativ/ Spender CMV IgG positiv) auf. Der Nachweis erfolgte über den Nachweis des pp65-Antigens zu diesem Zeitpunkt, da der CMV-PCR-Test noch nicht als Routineverfahren eingeführt war. Vor Einsatz von Everolimus erlitten 19 Patienten eine CMV-Reaktivierung von insgesamt 28 Patienten mit intermediären Risiko für CMV-Reaktivierung (n=9: Empfänger CMV IgG positiv/ Spender CMV IgG positiv oder n=6: Empfänger CMV IgG positiv/ Spender CMV IgG negativ) sowie mit hohem Risiko für eine CMV-Reaktivierung (n=8: Empfänger CMV IgG negativ/ Spender CMV IgG positiv). Zehn Patienten, die kein Risiko für eine CMV-Infektion zum Zeitpunkt der Stammzelltransplantation hatten, erlitten auch im weiteren Beobachtungszeitraum keine Erstinfektion für CMV, Tabelle 28.

Tabelle 28: Auftreten einer CMV-Reaktivierung

CMV-Risikokonstellation Empfänger/Spender: n	vor Everolimustherapie n	unter Everolimustherapie N
+/: n=14	9	0
+/- : n= 6	6	0
-/: n= 8	4	1
-/- : n=10	0	0
Summe:	19	1

Legende: Patientenanzahl (n), Cytomegalievirus (CMV)

Aus der Untersuchung geht hervor, dass unter Einsatz von Everolimus in Kombination mit weiteren Immunsuppressiva die Rate an CMV-Reaktivierungen signifikant geringer war ($p=0,0001$).

5.11.3 Herpes-simplex-Virus Typ 1 – Infektionen

Es traten insgesamt 5 Herpes-simplex-Virus Typ 1 - Infektionen, nachgewiesen mittels PCR im Rachenspülwasser, und zwei HSV 1 bedingte Herpes labiales Infektionen auf. Der mediane Zeitpunkt des Auftretens einer HSV 1 bedingten Infektion unter Everolimus lag bei 3,0 Monaten (Bereich: 0,4 – 33,8 Monate). Untersucht wurde, ob das Vorliegen einer enoralen cGvHD das

Auftreten begünstigt. Mit Beginn der Everolimustherapie litten 25 Patienten unter enoraler cGvHD (65,8%). Zum Zeitpunkt des Auftretens der HSV 1 - Infektion hatten 5 von 7 Patienten eine enorale cGvHD; davon 2 Patienten mit milder enoraler cGvHD, zwei Patienten mit moderater enoraler cGvHD und ein Patient mit schwerer enoraler cGvHD (14,3%). Vier Patienten erhielten neben Everolimus Prednisolon als Koimmunsuppression. Neben Prednisolon wurden 2 Patienten zusätzlich mit Mycophenolat behandelt. Bei einem Patienten trat die HSV 1 - Infektion unter der Behandlung mit Everolimus, Prednisolon, Mycophenolat und ECP auf. Das Vorliegen einer enorale cGvHD ($p=0,65$) sowie der Einsatz von Mycophenolat ($p=0,21$) begünstigte in dieser Patientenpopulation mit moderater und schwerer cGvHD nicht das Auftreten einer HSV 1 - Infektion.

5.12 Verträglichkeit, Nebenwirkungen und Toxizitäten

Nicht infektiös everolimusbedingte unerwünschte Ereignisse traten bei 27 Patienten (71,1%) mit insgesamt 64 Ereignissen (100%) auf. Vier Patienten (UPN 343, 384, 413, 507) erlitten eine oder mehrere unerwünschte Ereignisse des blutbildenden Systems. Unter den thrombembolischen Komplikationen kam es bei einem Patienten zu einer arteriellen Embolie (UPN 491) der A. femoralis superficialis auf, die erfolgreich mit einer Embolektomie behandelt werden konnte. Zwei Patienten erlitten jeweils eine Venenthrombose: eine akute Thrombose der V. axillaris rechts bei alter Thrombose der V. subclavia mit guter Rekanalisierung rechts im Sinne einer Rezidivthrombose (UPN 507) und eine Unterschenkelvenenthrombose (UPN 455) sowie eine ascendierende Thrombophlebitis der V. saphena magna rechts bis in die Mündung und circa 2 cm in die proximale V. femoralis communis rechts reichend mit erfolgreicher venöser Thrombektomie und Crossektomie der V. saphena magna rechts, wobei in diesem Fall zugleich das Homocystein erniedrigt und das Lupus- Antikoagulanzen positiv waren (UPN 315). Jedoch wurde die insbesondere in der kombinierten GvHD-Prophylaxe von einem mTOR-Inhibitor mit einem Calcineurininhibitor potentiell mögliche thrombozytopenische Mikroangiopathie (TMA) nicht beobachtet. Außerdem sind folgende bekannte Nebenwirkungen nicht beobachtet worden: Perikarderguss, endokrine Komplikationen, Lungenkomplikationen (interstitielle Lungenerkrankung, Proteinose der Lungenalveolen, Pleuraerguss) sowie keine Wundheilungsstörungen. Unter den hepatischen und renalen Komplikationen trat keine Hepatitis auf sowie keine renal tubuläre Azidose. Kardiovaskuläre unerwünschte Ereignisse unter Everolimustherapie traten bei vier Patienten. Davon eine Tachyarrhythmia absoluta (UPN 468), ein paroxysmales Vorhofflimmern (UPN 321) und zwei neue arterielle Hypertonien (UPN 384, 455). Am Häufigsten kam es zu Lipidstoffwechselstörungen bei acht Patienten. Davon hatten 6 Patienten eine kombinierte Hyperlipidämie (UPN 100, 384, 487, 488, 566, 570), ein Patient eine Hypercholesterinämie (UPN 274) und ein Patient eine Hypertriglyzeridämie (UPN 566). Dreizehn Patienten hatten bereits eine vorbestehende sekundäre Hyperlipidämie unter Calcineurininhibitoren entwickelt, davon 8 Patienten eine kombinierte Hyperlipidämie. Leichte unerwünschte gastrointestinale Ereignisse traten bei 2 Patienten innerhalb der ersten drei Monate auf, davon

ein Patient (UPN 507) mit leichter Übelkeit und Erbrechen sowie ein Patient (UPN 445) mit leichter Diarrhoe. Abnorme Leberwerte, die nicht auf eine cGvHD zurückgeführt wurden, kamen bei acht Patienten vor (UPN 100, 384, 468, 488, 496, 507, 524, 570). Nach Auftreten von erhöhten Leberparametern entwickelte sich vier Monate später bei einem Patienten (UPN 524) eine akute akalkuläre Cholecystitis mit Cholestase bei Papillenstenose, die erfolgreich mit einer ERCP und Stenteinlage in den Ductus hepaticus communis und den Ductus pancreaticus sowie mit Ceftriaxon behandelt wurde. Die Stententfernung erfolgte komplikationslos drei Monate nach dem akuten Ereignis. Als kutanes unerwünschtes Ereignis wurde einmalig eine Akne (UPN 487) im Nasenbereich dokumentiert. Sechs Patienten erlitten muskulo-skelettale unerwünschte Ereignisse in Form von Myalgien (UPN 75, 343, 390, 397, 437) und einmalig kombiniert mit Arthralgien (UPN 507). Davon wurde aufgrund von Myalgien und/oder Arthralgien bei 4 Patienten die Everolimustherapie beendet (UPN 75, 343, 397, 507). Renale unerwünschte Ereignisse traten bei 10 Patienten auf, wobei bei sechs eine Proteinurie (UPN 238, 325, 360, 364, 496, 566) und bei vier eine Nierenfunktionsverschlechterung (UPN 320, 321, 437, 556) eintraten, wobei bei einem Patienten (UPN 437) aufgrund der Verschlechterung der glomerulären Filtrationsrate die Everolimusbehandlung beendet wurde. Ödeme, die nicht kardial und nicht renal bedingt waren, traten bei 3 Patienten ein (UPN 100, 397, 455). Ein Tumor wurde unter Everolimusbehandlung in Form eines superfiziellen Basalzellkarzinom an der rechten Schläfe (UPN 488) dokumentiert, welches in toto exzidiert und plastisch gedeckt wurde. In Tabelle 29 sind alle unerwünschten Ereignisse unter Everolimus mit dem entsprechenden CTCAE-Grad zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 29: Unerwünschte nichtinfektiöse Ereignisse unter Everolimus

Art des unerwünschten Ereignisses	n_{Ereignis} [%]	CTCAE-Grad 1-5: n_{Ereignis}
Hämatopetisch <ul style="list-style-type: none"> - Leukopenie - Thrombozyopenie - Anämie 	8 [12,5] 2 5 1	<u>Grad 1:</u> 1, <u>Grad 2:</u> 1 <u>Grad 1:</u> 3, <u>Grad 2:</u> 2 <u>Grad 1:</u> 1
Thrombembolisch <ul style="list-style-type: none"> - Arterielle Embolien - Venöse Thrombosen - Thrombophlebitis 	4 [6,2] 1 2 1	<u>Grad 1:</u> 1 <u>Grad 2:</u> 2 <u>Grad 2:</u> 1
Kardiovaskulär <ul style="list-style-type: none"> - Tachyarrhythmia absoluta - Paroxysmales Vorhofflimmern - Arterielle Hypertonie 	4 [6,2] 1 1 2	<u>Grad 2:</u> 1 <u>Grad 2:</u> 1 <u>Grad 2:</u> 2
Lipidstoffwechselstörung <ul style="list-style-type: none"> - Hypercholesterinämie (neu) - Hypertriglyzeridämie (neu) - <i>davon kombiniert (neu)</i> - <i>vorbestehende</i> 	14 [21,9] 7 7 6 13	<u>Grad 1:</u> 2, <u>Grad 2:</u> 5 <u>Grad 1:</u> 2, <u>Grad 2:</u> 1, <u>Grad 3:</u> 4
Gastrointestinal <ul style="list-style-type: none"> - Übelkeit - Erbrechen - Diarrhoe 	3 [4,7] 1 1 1	<u>Grad 1:</u> 1 <u>Grad 1:</u> 1 <u>Grad 1:</u> 1
Hepatisch <ul style="list-style-type: none"> - abnorme Leberwerte 	8 [12,5] 8	<u>Grad 1:</u> 5, <u>Grad 2:</u> 3
Cholanginös <ul style="list-style-type: none"> - Cholezystitis 	1 [1,6] 1	<u>Grad 3:</u> 1
Kutan <ul style="list-style-type: none"> - Akne 	1 [1,6] 1	<u>Grad 1:</u> 1
Muskelskelettal <ul style="list-style-type: none"> - Myalgien - Arthralgie 	7 [10,9] 6 1	<u>Grad 2:</u> 3, <u>Grad 3:</u> 3 <u>Grad 3:</u> 1
Renal <ul style="list-style-type: none"> - Proteinurie - Nierenfunktionsverschlechterung 	10 [15,6] 6 4	<u>Grad 1:</u> 6 <u>Grad 1:</u> 2, <u>Grad 2:</u> 2
Ödeme	3 [4,7]	<u>Grad 1:</u> 1, <u>Grad 2:</u> 2
Tumor <ul style="list-style-type: none"> - Haut 	1 [1,6] 1	<u>Grad 3:</u> 1

Legende: Ereignisanzahl (n_{Ereignis}),

Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), Version 4.0

6 Diskussion

Das Auftreten einer moderaten oder schweren cGvHD ist eine Komplikation nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation die mit einer Mortalitätsrate von 25% bis 50% assoziiert ist [Kuzmina et al. 2012, Blazar et al. 2012]. Damit begründet sich die Notwendigkeit zur Etablierung effektiver Therapieregime insbesondere bei steroidrefraktärer cGvHD.

6.1 Allgemeines Therapieansprechen

Orientierend an publizierten Arbeiten wurde eine Reklassifikation nach den NIH-Kriterien der cGvHD von 2005 am eigenen Patientenkollektiv mit einer Everolimus-haltigen Calcineurininhibitor-freien Therapie vorgenommen, um die Effektivität des mTOR-Inhibitors hinsichtlich des Gesamtschweregrades und des organbezogenen Schweregrades exakter als unter Anwendung der historischen Klassifikation zu charakterisieren [Jagasia et al. 2007, Kim et al. 2010].

Wird die Verbesserung der Gesamtschweregrades als Therapieansprechen gewertet, so konnte dies bei 20 Patienten (52,6%) erreicht werden. Dieses Ergebnis ist vergleichbar mit den Daten von Mielke et al., die unter der Everolimustherapie bei 43% der Patienten (n=34 von 80 Patienten) eine Gesamtschweregradverbesserung über dem gesamten Beobachtungszeitraum sahen. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass diese Patientenkohorte heterogener als die eigene erscheint, weil Patienten mit milder cGvHD (n=14, 17%) eingeschlossen wurden und zudem die Patienten nicht nur in den Kombinationen von Everolimus mit Steroiden, Inosinmonophosphat-Dehydrogenaseinhibitoren (z.B. Mycophenolat) und der ECP behandelt wurden, sondern auch andere Ko-Therapeutika wie Calcineurininhibitoren, Rituximab und Methotrexat erhielten [Mielke et al. 2014]. Interessant ist, dass sich das Ergebnis zum Therapieansprechen bezogen auf die Reduktion des Gesamtschweregrades vom Erreichen des Remissionsgrades unterscheidet. Übereinstimmung von Gesamtschweregradverbesserung und Remissionsgrad findet sich bei 44,7% Patienten, welche eine CR (10,5%) und PR (34,2%) erzielten. Zu beachten ist, dass lediglich 3 der 11 Patienten (7,9%) mit einem gemischten Ansprechen (MR) eine Verbesserung des Gesamtschweregrades erreichten. Die eigenen Ergebnisse sind mit den

Daten von Mielke et al. bezüglich des Erreichens einer PR von 30% und eines MR von 28% vergleichbar, wobei 4 von 22 Patienten (5%) mit einem MR auch eine Verbesserung des Gesamtschweregrades am Beobachtungszeitende aufwiesen. Eine komplette Remission konnte im Patientenkollektiv von Mielke et al. bei 20% erzielt werden [Mielke et al. 2014]. In Tabelle 30 wurden die Remissionsdaten verschiedener Studien dargestellt, bei dem mTOR-Inhibitoren zur Behandlung der cGvHD eingesetzt wurden. Ein Vergleich mit den eigenen Daten ist nur eingeschränkt möglich, da sich die Definitionen zum Therapieansprechen, die Schweregrade der cGvHD, der Einsatz von Ko-Therapeutika unterscheiden und die Angaben nicht immer vollständig aus den Publikationen ablesbar waren.

Tabelle 30: Therapieansprechen im Studienvergleich

Studie	Studienart	Patienten-anzahl, n	OR n [%]	CR n [%]	PR n [%]	SD n [%]	PD n [%]
Johnston et al. 2005	prospektiv, Phase II	19 (16 [#])	15 [78,9]	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Couriel et al. 2005	prospektiv, Phase II	35 (34 [#])	22 [62,8]	6 [17,1]	16 [45,7]	10 [28,6]	2 [5,7]
Jurado et al. 2007	retrospektiv	47	38 [80,8]	18 [38,3]	20 [42,5]	k.A.	k.A.
Jedlickova et al. 2011	retrospektiv	34	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Mielke et al. 2014	retrospektiv	80	50 [50,0]	16 [20,0]	24 [30,0]	8 [10,0]	10 [12,5]
					MR: 22 [27,5]		
eigene Daten 2016	retrospektiv	38	17 [44,7]	4 [10,5]	13 [34,2]	6 [15,8]	4 [10,5]
					MR: 11 [28,9]		

Bemerkung: [#]...evaluierbare Patienten in Klammern

Legende: Patientenanzahl (n), Overall Response = Allgemeines Ansprechen (OR),
Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD), keine Angabe (k.A.)

Der Einsatz von Everolimus in der jeweiligen zweiten bis fünften Behandlungslinie hatte keinen Einfluss auf den erreichten Gesamtremissionsgrad ($p=0,613$). Zudem wurde das Therapieansprechen nicht beeinflusst bezüglich der verwendeten Ko-Therapeutika ($p=0,407$). Vorhergehende retrospektive Untersuchungen dokumentierten ebenso die Behandlungslinie und

gleichzeitig angewendete Therapeutika, indem mTOR-Inhibitoren eingesetzt wurden ohne eine spezifische Aussage hinsichtlich des beeinflussenden Therapieansprechens zu treffen. Jedoch legt die eigene Bewertung dieser Daten nahe, dass die klinische Wirksamkeit von der Behandlungslinie und von therapeutisch verwendeten Kombinationspartnern nicht beeinflusst werden [Johnston et al. 2005, Jedlickova et al. 2011, Mielke et al. 2014].

Die Wirksamkeit des mTOR-Inhibitors war mit Erreichen einer PR im Median nach 3 Monaten eingetreten. Dieses Ergebnis unterstreicht die Empfehlung zu einer Mindesttherapiedauer von 12 Wochen, unter genauer klinischer Beobachtung, wenn ein neues Therapieregime zur Behandlung der cGvHD begonnen wird. Eine komplette Remission war bei 4 Patienten erst nach monatelanger Behandlung im Median bei 22,5 Monaten erreicht. Diese begründet sich dadurch, dass sich die schweren Veränderungen nur sehr langsam zurückbilden und somit ein Therapieerfolg einstellt [Vogelsang 2001, Wolff et al. 2011].

Mit der seit 2005 etablierten NIH-Klassifikation kann die cGvHD differenzierter hinsichtlich deren Organbefälle charakterisiert werden und ermöglicht eine bessere Dokumentation und Standardisierung des Gesamtschweregrades. Die wissenschaftlichen Untersuchungen zur Standardisierung der Therapie der cGvHD nahmen seither deutlich zu, insbesondere unter der Bildung von Konsensusgruppen in Europa und den USA. Die deutsch-österreichisch-schweizerische Konsensusgruppe erfasste und bewertete evidenzbasierend die bis 2010 publizierten Ergebnisse von Therapieregimen bei cGvHD sowie anhand eines an die deutschsprachigen Transplantationszentren gerichteten standardisierten Fragebogens bei cGVHD in einem Konsensuspapier, in dem auch die eigenen ersten Daten zur mTOR-basierenden Therapie bewertet wurden [Wolff et al. 2011, Klink et al. 2008]. Die Beurteilung des Evidenzgrades gründete sich hauptsächlich auf retrospektive Analysen, welche teilweise auch noch mit der historischen Klassifikation arbeiteten. Der Goldstandard in der Erstlinientherapie bei einer moderaten und schweren cGVHD ist Prednisolon oder Methylprednisolon [Wolff et al. 2010, Flowers und Martin 2015]. Die Art der Zweitlinientherapie bei steroidrefraktärer cGvHD basiert nicht auf systematisch durchgeführten Untersuchungen und kann insbesondere bei ungenügender Datenlage nur begrenzte Empfehlungen hinsichtlich der

spezifischen Wirksamkeit von Therapieregimen nach dem befallenen Organsystemsystem leisten [Wolff et al. 2011]. Es existieren Arbeiten, die das allgemeine Therapieansprechen oder organbezogene Ansprechen einer einzelnen Substanz oder einer Therapiekombination untersuchen, die einen „anti-GvHD“-Wirkmechanismus besitzt. Allerdings stehen nur wenige Untersuchungen zur Verfügung, die das allgemeine Therapieansprechen als auch das organbezogene Ansprechen beurteilten [Kharfan-Dabaja et al. 2009, Herrera et al. 2014, Malik et al. 2014, Wang et al. 2014]. Häufig wurde der steroidsparende Effekt bezogen auf die Prüfmedikation als Behandlungsansprechen mit gewertet [Basara et al. 1998, Greinix et al. 1998, Busca et al. 2000, Apisarnthanarax et al. 2003, Busca et al. 2003, Couriel et al. 2005, Foss et al. 2005, Johnston et al. 2005, Lopez et al. 2005, Bisaccia et al. 2006, Cutler et al. 2006, Flowers et al. 2008, Jedlickova et al. 2011, Nikiforow et al. 2013, Olivieri et al. 2013, Ussowicz et al. 2013, Mielke et al. 2014, Hautmann et al. 2015, Sánchez-Ortega et al. 2016]. Die eigenen Untersuchungen zeigen signifikant, dass mit einem effektiven Therapieansprechen (CR oder PR) eine Dosisreduktion von Prednisolon möglich ist ($p=0,025$). Dabei wurde die Steroidreduktion nicht von der eingesetzten Ko-Therapeutika MMF und ECP ($p=0,289$) und nicht von der Behandlungslinie ($p=0,778$) beeinflusst.

Erstmalig konnte gezeigt werden, dass auch eine Beendigung von Mycophenolat bei einem Drittel der Patienten (33,3%, 7 von 21 Patienten) die MMF zum Therapiebeginn von Everolimus erhielten mit einem Therapieansprechen in Form einer CR, PR und eines MR assoziiert war.

Das Überleben nach Initiierung von Everolimus lag bei 78,9% bei einer medianen Beobachtungszeit von 977 Tagen respektive 2,7 Jahren und bestätigt publizierte Daten zum Einsatz von mTOR-Inhibitoren ohne gleichzeitigen Einsatz von Calcineurininhibitoren mit vergleichbarem Beobachtungszeitraum [Jedlickova et al. 2011]. Dabei unterschied sich das Überleben nicht signifikant vom vor Beginn der Everolimustherapie vorliegenden Gesamtschweregrad und vom erreichten Gesamtschweregrad als auch erreichten Remissionsgrad. Aber es zeigte sich ein Trend bezüglich einer geringeren Überlebenswahrscheinlichkeit von 60,0% bei den Patienten die kein Ansprechen aufwiesen (SD = NC oder PD). Da 11 Patienten mit einem MR innerhalb der Beobachtungszeit ein relativ günstiges Überleben aufwiesen,

könnte sich in der begrenzten Beobachtungszeit begründen. Zudem ist anzunehmen, dass der Grad des organspezifischen Ansprechens und das Nichtansprechen eine prognostische Bedeutung hinsichtlich der Lebenserwartung haben.

6.2 Organbezogenes Therapieansprechen

Einunddreißig Patienten litten unter einem multiplen Organbefall von jeweils ≥ 3 bis 6 Organen, wobei eine Verbesserung des Gesamtschweregrades nicht begünstigt wurde von einem geringeren Organbefall ≤ 2 ($p=0,341$).

Hervorzuheben ist, dass Everolimus bei einer kutanen cGvHD eine gute Wirksamkeit besitzt, indem bei 63,6% der 33 Patienten eine Verbesserung um mindestens einen Schweregrad zu beobachten war und eine CR bei 30,3% und eine PR 33,3%. Dieses Ergebnis ist annähernd vergleichbar durch die Daten von Jedlickova et al. in Anwendung von Everolimus oder Sirolimus ohne gleichzeitigem Einsatz von Calcineurininhibitoren bei sklerodermiformer cGVHD mit einem Ansprechen von 76% (CR 18%, PR 59%) [*Jedlickova et al. 2011*]. Berücksichtigung sollten Erkenntnisse aus in-vitro-Untersuchungen finden, dass mTOR-Inhibitoren die PDGF- und bFGF induzierte Fibrogenese und Fibroblastenproliferation in Haut und Bindegewebe hemmen, welches die Wirksamkeit von mTOR-Inhibitoren bei sklerodermiformer cGvHD der Haut wahrscheinlich bestimmt [*Salas-Prato et al. 1996, Namba et al. 2015*]. Bereits die unter Punkt 6.1 zitierten Untersuchungen, welche mTOR-Inhibitoren in Kombinationstherapien zur Behandlung einer cGvHD einsetzten, zeigten in drei von fünf Untersuchungen ein gutes Ansprechen bei kutaner cGvHD, Tabelle 31.

Tabelle 31: Therapieansprechen bei cGvHD der Haut im Studienvergleich

Studie	Studienart	Patienten- anzahl, n	OR _{Haut} n [%]	CR _{Haut} n [%]	PR _{Haut} n [%]	SD _{Haut} n [%]	PD _{Haut} n [%]
Johnston et al. 2005	prospektiv, Phase II	12	6 [50,0]	3 [25,0]	3 [25,0]	6 [50,0]	
Couriel et al. 2005	prospektiv, Phase II	29 (*n=1)	19 [63,3]	7 [23,3]	12 [40,0]	9 [30,0]	
Jurado et al. 2007	retrospektiv	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Jedlickova et al. 2011	retrospektiv	34	26 [76,5]	6 [17,6]	20 [58,8]	2 [5,9]	6 [17,6]
Mielke et al. 2014	retrospektiv	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
eigene Daten 2016	retrospektiv	33	21 [63,6]	10 [30,3]	11 [33,3]	9 [27,3]	3 [9,1]

Bemerkung: *...nicht evaluierbare Patienten in Klammern

Legende: *Patientenanzahl (n), Overall Response = Allgemeines Ansprechen (OR),
Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD), keine Angabe (k.A.)*

In der eigenen Untersuchung wurden die Therapieergebnisse zum organspezifischen Ansprechen von der jeweiligen cGvHD der Mundschleimhaut, der Augen, des Gastrointestinaltraktes, der Leber, der Lunge, des Genitaltraktes sowie des Bewegungsapparates mit Faszien und Gelenken dargestellt. Ein Vergleich der eigenen Daten mit publizierten Untersuchungen ist nur begrenzt möglich, da in den einzelnen Analysen organspezifische cGvHD-Ausprägungsgrade entsprechend der NIH-Klassifikation von 2005 nicht umfassend genug gezeigt wurden.

Bei 16 von 26 Patienten (61,5%) mit einer cGvHD der Mundschleimhaut trat unter der Anwendung von Everolimus eine Stadienverbesserung mit Erreichen einer CR in 10 (38,5%) und einer PR in 6 Fällen (23,0%). Im Vergleich zu den veröffentlichten Untersuchungen von Johnston et al. und Couriel et al. finden sich ähnliche Ansprechraten von 61,5% und 75,0%, Tabelle 32 [Johnston et al. 2005, Couriel et al. 2005].

Tabelle 32: Therapieansprechen bei cGvHD der Mundschleimhaut im Studienvergleich

Studie	Studienart	Patienten- anzahl, n	OR _{MSH} n [%]	CR _{MSH} n [%]	PR _{MSH} n [%]	SD _{MSH} n [%]	PD _{MSH} n [%]
Johnston et al. 2005	prospektiv, Phase II	13	8 [61,5]	3 [23,0]	5 [38,5]	5 [38,5]	
Couriel et al. 2005	prospektiv, Phase II	7 (*n=1)	6 [75,0]	2 [25,0]	4 [50,0]	1 [12,5]	
eigene Daten 2016	retrospektiv	26	16 [61,5]	10 [30,3]	6 [23,1]	9 [34,6]	1 [3,8]

Bemerkung: *...nicht evaluierbare Patienten in Klammern

*Legende: Patientenanzahl (n), Mundschleimhaut (MSH),
Overall Response = Allgemeines Ansprechen (OR),
Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD)*

Tränenersatzlösungen als supportive Therapie werden zur Behandlung der cGvHD des Auges primär eingesetzt, da das Sicca-Syndrom am Auge das häufigste Symptom mit einer okulären cGvHD darstellt, wobei eine Augenbeteiligung nach Stammzelltransplantation zu 40 - 60% und bei cGvHD zu 60 - 90% vorkommt [Kim et al. 2005, Tabarra et al. 2009]. Durch den Tränenmangel treten Schädigungen an der Cornea und an den Konjunktiven auf, die nicht selten mit Lokalinfectionen verbunden sind. Beachtenswert ist, dass durch systemische Kortikoide bei GvHD-Therapie auch Nebenwirkungen, wie ein Katarakt oder eine infektiöse Keratitis, eintreten können, sodass in jedem Fall der Patient dem Ophthalmologen vorgestellt werden sollte. Weitere topische Therapien und Maßnahmen, insbesondere bei moderatem und schweren Stadium haben einen wichtigen Stellenwert, wie die Eigenserumtherapie, Vitamin A-Augentropfen, topischen Ciclosporinaugentropfen, der Einsatz von Tränenkanalplugs, harte Skleralinsen, Kammerbrillen und bei schwersten Grade, die chirurgische Entfernung von Pseudomembranen, die Amnion- und Corneatransplantation. Die systemische cGvHD-Therapie kann zusätzlich zu einer Verbesserung und Symptomrückbildung insbesondere bei Auftreten einer Uveitis und posterioren Skleritis führen [Hettinga et al. 2007, Westeneng et al. 2010]. In der eigenen Untersuchung wurde das Therapieansprechen bei okulärer Beteiligung untersucht und es zeigte sich, dass unter Fortführung von konservativen Lokalmaßnahmen und systemisch wirksamer Immunsuppressiva bei 30% der Patienten mit einer

cGvHD der Augen ein Therapieansprechen beobachtet wurde. Verglichen mit anderen kleinen Datenanalysen bezüglich der Verbesserung des cGVHD der Augen und dem Einsatz von mTOR-Inhibitoren wurde eine geringere Ansprechrate in der eigenen Kohorte beobachtet, Tabelle 33.

Tabelle 33: Therapieansprechen bei cGvHD des Auges im Studienvergleich

Studie	Studienart	Patienten-anzahl, n	OR _{Auge} n [%]	CR _{Auge} n [%]	PR _{Auge} n [%]	SD _{Auge} n [%]	PD _{Auge} n [%]
Johnston et al. 2005	prospektiv, Phase II	6	4 [66,6]	1 [16,6]	3 [50,0]	2 [33,3]	
Couriel et al. 2005	prospektiv, Phase II	11 (*n=2)	7 [64]	1 [9]	6 [55]	2 [18]	
eigene Daten 2016	retrospektiv	30	9 [30]	4 [13,3]	5 [16,6]	17 [56,6]	4 [13,3]

Bemerkung: *...nicht evaluierbare Patienten in Klammern

Legende: Patientenanzahl (n), Overall Response = Allgemeines Ansprechen (OR),
Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD)

Eine gastrointestinale cGvHD war in dieser Untersuchung bei 6 Patienten nachweisbar (15,8%), von denen 2 Patienten ein Therapieansprechen (CR) bei milder und moderater cGvHD der Gastrointestinaltraktes erreichten. Bei einem Patienten trat eine moderate cGvHD der GIT-Traktes jedoch neu unter Everolimus auf und zwei Patienten mit schwere gastrointestaler cGvHD erreichten keine Schweregradverbesserung bei nur kurzer Behandlungszeit von je 18 Tagen mit erreichtem Everolimusspiegel im therapeutischen Bereich. Ein Vergleich mit anderen Studien ist mit der Arbeit von Couriel et al. unter Anwendung von Sirolimus mit Tacrolimus und Kortikosteroiden eingeschränkt möglich, bei den 6 von 35 Patienten (17,1%) unter einem gastrointestinalen Organbefall mit Übelkeit, Erbrechen, abdominalen Schmerzen und Diarrhoen von 1 – 2,5 l litten und sich ein Ansprechen bei 4 Patienten (CR: n=3, PR: n=1) zeigte, Tabelle 34. Da nur kleine Patientenzahlen in der Analyse zur Verfügung standen, sind weitere Untersuchungen erforderlich, welche in Abhängigkeit des Schweregrades der cGVHD der Gastrointestinaltraktes die Effektivität von mTOR-Inhibitoren prüfen.

Tabelle 34: Therapieansprechen bei cGvHD des Gastrointestinaltraktes im Studienvergleich

Studie	Studienart	Patienten- anzahl, n	OR _{GIT} n [%]	CR _{GIT} n [%]	PR _{GIT} n [%]	SD _{GIT} n [%]	PD _{GIT} n [%]
Johnston et al. 2005	prospektiv, Phase II	1	0	0	0	1	
Couriel et al. 2005	prospektiv, Phase II	6 (*n=1)	4 [67]	3 [50]	1 [17]	1 [17]	
eigene Daten 2016	retrospektiv	6	2 [33]	2 [33]	0	3 [50]	1 [17]

Bemerkung: *...nicht evaluierbare Patienten in Klammern

*Legende: Patientenanzahl (n), Gastrointestinaltrakt (GIT),
Overall Response = Allgemeines Ansprechen (OR),
Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD)*

Mit Auftreten einer behandlungsbedürftigen hepatischen cGvHD sind in erster Linie Kortikosteroide, aber auch Calcineurinhhibitoren, Mycophenolat und die extrakorporale Photopherese neben anderen immunsuppressiv wirksamen Substanzen zum Einsatz kommende Strategien [Nagler et al. 2001, Baudard et al. 2002, Dignan et al. 2012, Malik et al. 2014]. Vorteilhaft wurde zudem der Einsatz von Ursodeoxycholsäure bei manifester cGvHD mit Cholestase und Pruritus beschrieben und es scheint effektiv in präventiver Anwendung, da die Leber-cGvHD häufig wie eine primäre biliäre Zirrhose verläuft [Fried et al. 1992, Ruutu et al. 2002, Arat et al. 2005, Ruutu et al. 2014]. In der eigenen Untersuchung zeigten 9 von 20 Patienten (45%) mit einer hepatischen cGvHD ein Therapieansprechen. Eine CR erreichten 5 Patienten mit milder hepatischer cGvHD und ein Patient mit moderatem Schweregrad. Bei 3 Patienten mit einer moderaten Schweregrad zu Beginn der Everolimusbehandlung kam es zu einer PR. Kein Ansprechen ohne Eintritt einer Progression zeigte sich bei 6 Patienten mit milder, bei 4 Patienten mit moderater und einem Patienten mit schwerer hepatischer cGvHD. Hinsichtlich der klinischen Anwendung kann Everolimus in fortgeschrittener Therapielinie eine Effektivität bei mildem und moderatem Schweregrad einer cGvHD der Leber zuerkannt werden. Ein sinusoidales Obstruktionssyndrom (SOS) trat nicht auf, welches in der Anwendung durch mTOR-Inhibitoren beschrieben wurde. Dies könnte sich am ehesten begründen, dass Everolimus spät nach Transplantation sowie ohne

gleichzeitige Anwendung von Calcineurininhibitoren zum Einsatz kam [Cutler et al. 2008, Platzbecker et al. 2009]. Angefügt soll hier die Übersicht zu den Untersuchungen, die ein organbezogenes Ansprechen in Anwendung von mTOR-Inhibitoren und hepatischer cGvHD darstellten, Tabelle 35.

Tabelle 35: Therapieansprechen bei cGvHD der Leber im Studienvergleich

Studie	Studienart	Patienten-anzahl, n	OR _{Leber} n [%]	CR _{Leber} n [%]	PR _{Leber} n [%]	SD _{Leber} n [%]	PD _{Leber} n [%]
Johnston et al. 2005	prospektiv, Phase II	9	5 [56]	5 [56]	0	4 [44]	
Couriel et al. 2005	prospektiv, Phase II	6	2 [33]	0	2 [33]	4 [67]	
eigene Daten 2016	retrospektiv	20	9 [45]	6 [30]	3 [33]	11 [55]	0

Legende: Patientenanzahl (n), Overall Response = Allgemeines Ansprechen (OR),
Komplette Remission (CR), Partielle Remission (PR),
Stable Disease = Stabile Erkrankung (SD),
Progressive Disease = Progrediente Erkrankung (PD)

Unter den GvHD assoziierten Lungenerkrankungen sind typisch für eine pulmonale cGvHD die Bronchiolitis obliteratans (BO) oder das BO-Syndrom (BOS), welche mit hoher Mortalität verbunden sind. Die Bronchiolitis obliterans organisierende Pneumonie (BOOP) wird der akuten GvHD als auch der chronischen GVHD zugeordnet. Die späte interstitielle Pneumonie (IP) und die kryptogen organisierende Pneumonie (COP) können mit einer cGVHD assoziiert sein [Watkins et al. 2005, Hildebrandt et al. 2011]. Zur Therapie gehören topische Maßnahmen mit inhalativen Steroiden und langwirksamer Bronchodilatoren und in der systemisch wirkenden Erstlinientherapie werden Kortikosteroide eingesetzt. Bei nicht ausreichendem Ansprechen wurde eine Wirksamkeit durch Anwendung von ECP, Calcineurininhibitoren, Mycophenolat, vom Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib, von Etanercept sowie mTOR-Inhibitoren beschrieben [Couriel et al. 2005, Couriel et al. 2006, Majhail et al. 2006, Pérez-Simón et al. 2006, Olivieri et al. 2009, Hildebrandt et al. 2011, Lucid et al. 2011, Wolf et al. 2011, Olivieri et al. 2013, Brownback et al. 2016]. In der eigenen Analyse litten 10 Patienten an einer pulmonalen cGvHD von denen 2 Patienten mit mildem Schweregrad und ein Patient mit moderatem Schweregrad ein Ansprechen mit kompletter Remission zeigten. Von den 7 Patienten ohne Ansprechen hatten 2 eine milde, 3 eine moderate und 2 eine schwere cGvHD.

Ein direkter Vergleich ist aufgrund fehlender Daten nicht möglich, wo eine pulmonale cGvHD mit mTOR-Inhibitoren behandelt wurde. Ähnlich wie unter Anwendung von Imatinib kann postuliert werden, dass eine Wirksamkeit von Everolimus bei milder bis moderater cGvHD der Lunge erwartet werden kann, jedoch nicht bei schwerer pulmonaler cGvHD [Stadler et al. 2009]. Erfolgt eine Gegenüberstellung der Everolimustherapie mit einer kleinen Datenanalyse zur ECP bei pulmonaler cGvHD scheint diese mit Ansprechraten von 67% auch bei sehr fortgeschrittenen Stadien vorteilhafter zu sein [Lucid et al. 2011]. Anzuführen ist, dass in der eigenen Untersuchung 2 Patienten mit moderater cGvHD der Lunge vor Einsatz mit Everolimus eine ECP ohne Therapieansprechen erhielten. Weitere 2 Patienten mit moderatem und schwerem Stadium hatten kein Ansprechen auf Everolimus bezüglich der Lungen-cGVHD und welche nachfolgend mit ECP behandelt wurden, jedoch auch auf diese interventionelle Maßnahme kein Ansprechen zeigten.

Die Inzidenz der genitalen cGvHD der Frau erscheint mit 15,4% (2 von 13) gering im Vergleich zu den bekannten prospektiven Untersuchungen von Spinelli et al. mit 24,9% und Zantomio et al. 35% und häufig gleichzeitig eine orale cGvHD vorliegt; hier 61,5% (8 von 13 weiblichen Patienten) [Spinelli et al. 2003, Zantomio et al. 2006]. Hier ist als Nachteil festzustellen, dass mit vorhandenen Datensätzen die Analyse erfolgte und somit eine Auftretenshäufigkeit ähnlich wie in der retrospektiven Untersuchung von Stratton et al. mit 11% mit vielfach größerer Kohorte von 266 Patientinnen berichtet wurde [Stratton et al. 2007]. Über die Wirksamkeit von Everolimus bei genitaler cGvHD kann die Untersuchung keine Aussage treffen. Werden die 2 Fälle mit den 2 Patienten aus der Arbeit von Johnston und Mitarbeiter in der Anwendung von mTOR-Inhibitoren gemeinsam betrachtet, so ist ein Ansprechen bei 2 Patienten in deren Analyse dokumentiert [Johnston et al. 2005].

Die Behandlung einer muskuloskelettalen cGvHD orientiert sich an supportiven Therapiemaßnahmen: unter anderem mit Verwendung von Muskelrelaxantien wie Baclofen, Dopaminagonisten wie Ropinirol, Benzodiazepine und Chininsulat. Eine wichtige Bedeutung haben die physiotherapeutischen und ergotherapeutischen Behandlungen zum Beweglichkeits- und Kräfteerhalt sowie zur Verhinderung eines Selbsthilfedefizits [Marks et al. 2011, Carpenter et al.

2015]. Eine muskuloskeletale Organbeteiligung in Form einer Faszitis trat bei 5 Patienten (13,2%) in der untersuchten Kohorte auf. Unter der Anwendung mit Everolimus erreichten 3 von 5 Patienten eine CR (n=2, jeweils mildes und moderates Stadium) respektive eine PR (n=1, moderates Stadium) auf. Zwei Patienten mit mildem Schweregrad sprachen nicht an, wobei bei einem ein Progress in ein moderates Stadium eintrat. Wie schon in der Diskussion der Ergebnisse zur hepatischen und pulmonalen cGvHD kann bei sehr kleinem Patientenkollektiv eine Effektivität bei mildem und moderatem Schweregrad von einer muskuloskeletalen cGVHD angenommen werden.

6.3 Beeinflussung der lymphozytären Subpopulationen unter Everolimus

Untersuchungen über die Lymphozytensubpopulationen sind überwiegend zu den T-Zell-Subpopulationen durchgeführt wurden. Ein jeweiliger Anstieg der CD3+T-Lymphozyten, Th17+Helferzellen, der CD4+Memory-Zellen und CD8+Memory-Zellen ist mit dem Auftreten einer cGvHD assoziiert [Abrahamsen et al. 2005, Dander et al. 2009, Yamshita et al. 2004, D'Asaro et al. 2006].

Die Annahme, dass sich insbesondere die CD4/CD8-Ratio mit einem Behandlungsansprechen (CR oder PR, n=17) im Vergleich zu der Gruppe ohne Behandlungsansprechen (SD oder PD, n=10) signifikant verbessert, konnte sich nicht bestätigen, wobei dieses Ergebnis von den kleinen Fallzahlen mit beeinflusst wird und eine Nachbeobachtung der Gruppen aufgrund einer unterschiedlichen Weiterbehandlung der Patienten mit einem Nichtansprechen (SD, PD oder MR) nicht erfolgte.

Interessant erscheint, dass die Patienten mit einer Kombination aus Prednisolon und Everolimus im Vergleich zu Patienten die zusätzlich Mycophenolat und/oder ECP erhielten über den gesamten Beobachtungszeitraum höhere Anteile an CD4+T-Lymphozyten und CD19+B-Lymphozyten aufweisen. Die CD4/CD8-Ratio ist bei den Patienten mit nur einer zweifachen Immunsuppression Prednisolon und Everolimus unabhängig vom Behandlungsansprechen im Vergleich zu den anderen Medikamentenkombinationen im Trend verbessert. Somit scheinen die eingesetzten Behandlungskombinationen die zelluläre Immunität zu beeinflussen. Dies sollte, auch wenn

in dieser Arbeit nicht direkt untersucht, in der Auswahl der medikamentösen Behandlungskombinationen und der immunmodulatorischen Therapie wie die ECP berücksichtigt werden, um die Art und die Schwere von infektiologischen Komplikationen bei sekundär erworbenen Immundefekt zu reduzieren. An dieser Stelle wird nochmals betont, dass das Ansprechen nicht signifikant durch die eingesetzten Immunsuppressiva Prednisolon und/oder Mycophenolat und/oder ECP beeinflusst wurde.

In die Diskussion ist an diese Stelle einzubringen, dass Greinix und Mitarbeiter in den vergleichenden Untersuchungen zwischen 21 Patienten ohne und 49 Patienten mit chronischer GvHD keine signifikanten Unterschiede in den absoluten B-, T- und NK-Lymphozytenzahlen fanden [Greinix et al. 2008].

Eine weiterführende differenzierte Beurteilung der zellulären Immunität hinsichtlich der dynamischen Entwicklung von regulatorischen T-Zellen (CD4+CD25+-Treg-Zellen, T_R1-Zellen, T_H3-T-Helferzellen, NK-T-Zellen, CD8+-regulatorische Zellen) war durch das begrenzte Messprotokoll nicht möglich. Bekannt ist, dass insbesondere Treg-Zellen, welche über die Expression des Transkriptionsfaktors FOXP3 (forkhead box protein 3) identifiziert werden, bei Patienten mit cGvHD reduziert sind und somit auf eine verminderte Thymusfunktion schließen lässt [Miura et al. 2004]. Interessant wäre hierbei, ob ein Wiederanstieg der Treg-Zellen unter einem Behandlungsansprechen mit Everolimus in Assoziation stehen würde. Diese Fragestellung könnte in einer prospektiv angelegten Untersuchung analysiert werden. Weiterhin konnte das pro-inflammatorischen Zytokinverhalten, welches bei cGvHD durch TNF- α , IL-6, IL-1b, IL-8, lösliche α -Kette des IL-2 -Rezeptor durch aktivierte T-Zellen (sIL-2R) und IL-1Ra beschrieben wurde, nicht dargestellt werden. Ein paraklinischer Parameter respektive Biomarker könnte die Bestimmung des löslichen IL-2-Rezeptor-Levels darstellen, da Everolimus IL-2 mit nachfolgender Proliferationshemmung von T-Lymphozyten inhibiert. Kobayashi und Mitarbeiter sowie die Arbeitsgruppe um Fujii konnten zeigen, dass Patienten, bei denen einer Verbesserung der cGvHD eintrat, signifikant niedrige IL-2-Rezeptor-Spiegel aufwiesen [Barak et al. 1995, Kobayashi et al. 1997, Liem et al. 1998, Fujii et al. 2008, Rozmus et al. 2011].

6.4 Beeinflussung der Immunglobulinspiegel unter Everolimus

Die chronische GvHD bedingt nicht selten auch eine humorale Immundefizienz mit sekundärem Immunglobulinmangelsyndrom. Gezeigt werden konnte, dass bei 20 Patienten ohne polyvalente Immunglobulinsubstitution die Immunglobulinspiegel IgG mit dem CD19+B-Lymphozyten korrelierten. Beschrieben wurde diese Korrelation auch durch die Arbeitsgruppe um Kuzmina [Kuzmina et al. 2011]. In der zitierten Arbeit werden B-Zell-Lymphozytensubpopulationen aufgeführt, die die Immundefizienz und verschiedene pathogenetischen Mechanismen von cGvHD beschreiben. In der eigenen Arbeit war das Therapieansprechen nicht beeinflusst von den Immunglobulinspiegel IgG, IgA und IgM.

6.5 Infektiologische Komplikationen

Infektionserkrankungen sind häufige Folgekomplikationen bei Patienten mit einer aktiven moderaten und schweren cGvHD. In der eigenen Analyse erkrankten 28 Patienten (73,7%) an einer oder mehreren Infektionen (Infektionsereignisse insgesamt 38), davon 5 Patienten (13,2%) mit schweren bis lebensbedrohenden Infektionen. Im Vergleich zu anderen Berichten über das Auftreten von Infektionen unter mTOR-Inhibitoren bei Therapie einer cGvHD werden in unterschiedlicher Frequenz von 16 – 77% Infektionsereignisse berichtet. Dabei sind virale, bakterielle und mykotische Infektionen beschrieben wurden. Kam es zu einer Sepsis, war diese wie auch in der eigenen Untersuchung bakteriell bedingt [Couriel et al. 2005, Jurado et al. 2007, Jedlickova et al. 2011, Mielke et al. 2014]. In der Phase II-Studie von Couriel und Mitarbeitern, die das Behandlungsansprechen von Sirolimus in Kombination mit Tacrolimus und Prednisolon bei steroidresistenter cGvHD prüften, traten bei 7 Patienten von 35 (20%) CMV-Reaktivierungen auf [Couriel et al. 2005]. Im Vergleich dazu war die Inzidenz mit lediglich einer CMV-Reaktivierung (2,6%) in der eigenen Kohorte von 38 Patienten gering. Möglicherweise führten zu einem häufigeren Auftreten einer CMV-Reaktivierung bei Couriel et al. die initial höheren Steroiddosen von 1 bis 2 mg/kg KG Methylprednisolon und der Einsatz von Tacrolimus mit therapeutischen Spiegel von 5 - 15 ng/ml zu Häufung von CMV-Infektionen. Denn die Metaanalyse von Andrassy et al. zeigte für die mTOR-basierende Immun-

suppression bei Organtransplantationen eine signifikant niedrigere Inzidenz von CMV-Reaktivierungen, wenn mTOR-Inhibitoren als Monotherapie oder in Kombination mit Calcineurininhibitoren eingesetzt wurden im Vergleich zur rein Calcineurininhibitor-basierende Host-versus-Graft-Prophylaxe, die ein 2,45-fach erhöhtes Risiko für eine CMV-Reaktivierung aufwies (RR, 2,45; 95% CI, 1,76-3,41, $p < 0,0001$). In dieser Untersuchung wurde zudem kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der „anti-CMV-Effektes“ von den beiden mTOR-Inhibitoren Sirolimus versus Everolimus nachgewiesen [Andrassy et al. 2012]. Die geringere Inzidenz von CMV-Reaktivierungen und Infektionen unter mTOR-Inhibitoren wird zum einen dadurch erklärt, dass die Virusreplikation durch die Inhibition der Untereinheit mTORC1 der mTOR-Kinase und somit der nicht folgenden Phosphorylierung das vom Virus in der Wirtszelle für die mRNA Translation genutzten 4EBP1 unterbleibt [Buckovich et al. 2008, Moorman et al. 2010, Clippinger et al. 2011, Vincent et al. 2016]. Zum anderen werden immunologische Mechanismen diskutiert, die in vitro unter mTOR-Inhibitoren beobachtet werden können. TH1-spezifische Interferon- γ -produzierende Lymphozyten werden durch mTOR-Inhibitoren stimuliert und hemmen somit die Invasion von CMV [Säemann et al. 2009]. Unter mTOR-Inhibitoren nimmt die Proliferation von $\gamma\delta$ -T-Zellen zu, die CMV infizierte Zellen eliminieren können [Li et al. 2011]. Und mTOR-Inhibitoren wirken immunmodulatorisch durch den Anstieg von Virus-spezifischen CD8+ Gedächtniszellen [Araki et al. 2009].

Varizella-zoster-Infektionen wurden bei 2 Patienten (5,3%) in der eigenen Untersuchung dokumentiert. Bei vergleichbare Kohortengröße traten 2 VZV-Reaktivierungen (5,8%), davon eine mit einem therapieresistenten tödlichen Verlauf, in der Arbeit zur mTOR-Inhibitortherapie bei sklerodermiformer GvHD auf [Jedlickova et al. 2011]. In einer früheren Arbeit zum Einsatz von Sirolimus mit Calcineurininhibitor und Prednisolon bei cGvHD wurde auch eine schwere disseminierte VZV-Reaktivierung nach CTCAE 3. Grades beschrieben. Die bisherigen Behandlungsstudien mit mTOR-Inhibitoren bei cGvHD berichteten über Herpes simplex Virus 1 – Reaktivierungen zu 2,8% bis 26,3% [Couriel et al. 2005, Johnston et al. 2005]. Dabei war der Anteil von 7 HSV1 - Reaktivierungen (18,4%) in der eigenen Kohorte ebenso nicht unerheblich. Ein Grund für das relativ gehäufte Auftreten von HSV1 – Reaktivierungen ist, dass die Patienten primär keine medikamentöse HSV-1- und VZV-Prophylaxe mit

Aciclovir oder Valaciclovir erhielten. Schlussfolgend scheint die antivirale Prophylaxe gegen HSV-1 und VZV mit Beginn einer mTOR-haltigen Behandlung sinnvoll.

6.6 Verträglichkeit, Nebenwirkungen und Toxizitäten

Ein besonderer Vorteil von Everolimus als mTOR-Inhibitor wird in der geringeren nephrotoxischen Wirkung im Vergleich zu den Calcineurininhibitoren gesehen, weshalb dieses für Organtransplantationen von Niere, Leber und Herz inzwischen einen festen Stellenwert besitzt und für die Host-versus-Graft-Prophylaxe zugelassen ist [Eisen et al. 2003, Vitko et al. 2004, Tedesco et al. 2010, Budde et al. 2011, De Simone et al. 2012, Cibrik et al. 2013].

Die frühere Phase II - Studie von Johnston et al. über die Behandlung von 19 cGvHD-Patienten mit Sirolimus, Calcineurininhibitor und Prednisolon wurde vorzeitig wegen des Auftretens von 37% Grad 3 und Grad 4 CTCAE-Toxizitäten geschlossen [Johnston et al. 2005]. Darunter waren schwere und sehr schwere hämatotoxische Nebenwirkungen (Thrombozytopenie), infektiologische Ereignisse (HSV1-Reaktivierungen, VZV-Reaktivierungen, abszedierende bakterielle Infektionen), metabolische Nebenwirkungen (Hypertriglyzeridiämie) und renale Nebenwirkungen (akute Niereninsuffizienz, Hämolytisches urämisches Syndrom) aufgetreten. In der eigenen Untersuchung traten 15 schwere unerwünschte Ereignisse mit einem Todesfall (Grad 3: n=13, Grad 4: n=1 und Grad 5: n=1) auf. Dies entsprach im Vergleich zur zitierten Untersuchung einer Rate von 14,7% bei insgesamt 102 unerwünschten Ereignissen bei 38 Patienten. Insbesondere kamen schwere Lipidstoffwechselstörungen, Myalgien und Arthralgien vor. Als jeweils einmalige Ereignisse wurden ein Hauttumor, eine Cholezystitis sowie weitere 5 schwere Infektionskomplikationen beobachtet, welche unter Punkt 6.5 diskutiert wurden. Der Einsatz von Everolimus ohne gleichzeitigen Einsatz von Calcineurininhibitoren ist in der eigenen Untersuchung für das geringere Auftreten von schweren Nierenfunktionsstörungen und das Ausbleiben von TMA-Ereignisse wahrscheinlich. Analysen aus der Organtransplantation scheinen den endothelzellschädigenden Effekt mehr den Calcineurininhibitoren als den mTOR-inhibierenden Substanzen zu zuschreiben [Nava et al. 2014].

7 Schlussfolgerungen

Mit den dargestellten Ergebnissen können die Zielsetzungen dieser Arbeit wie folgt beantwortet werden:

1. Mit einer everolimusbasierenden Therapie bei steroidrefraktärer moderater und schwerer cGvHD konnte eine Gesamtschweregradverbesserung nach den NIH-Kriterien bei 52,6% der untersuchten Patienten erreicht werden. Die Überlebenswahrscheinlichkeit für Patienten mit einem Therapieansprechen (CR oder PR) ist im Trend besser als im Vergleich für Patienten ohne Behandlungsansprechen. Ein Therapieansprechen kann auch erwartet werden, wenn Everolimus in einer höhergradigen, \geq zweiten Behandlungslinie eingesetzt wird.
2. Die Verbesserung des Gesamtschweregrades bei moderater und schwerer cGvHD kann mit einem gemischten organspezifischen Ansprechen einhergehen. Hinsichtlich des organspezifischen Ansprechens scheint Everolimus besonders wirkungsvoll bei der chronischen Graft-versus-Host-Erkrankung der Haut und der Mundschleimhaut zu sein.
3. Der Therapieerfolg von Everolimus erscheint unabhängig der eingesetzten weitergeführten Ko-Therapeutika Prednisolon und/oder Mycophenolat und/oder der immunmodulatorischen Behandlung mittels extrakorporalen Photopherese zu sein. Der Einsatz von Everolimus kann einen steroidsparenden Effekt, eine Dosisreduktion von Mycophenolat oder eine Beendigung der extrakorporalen Photopherese ermöglichen. Somit kann die Expositionszeit von hohen Steroid- und Mycophenolatdosen reduziert werden und potentielle medikamentenassoziierte Nebenwirkungen vermindert werden.
4. Die quantitative Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen reicht nicht aus, um die zelluläre Immunität hinsichtlich ihrer Funktionalität ausreichend charakterisieren zu können. Eine Verbesserung des Gesamtschweregrades geht nicht direkt mit einer verbesserten CD4/CD8-Ratio einher. Eine erniedrigte Anzahl von CD19+B-Lymphozyten korrelierte mit erniedrigten IgG-Immunglobulinspiegeln. Damit ist die Bestimmung des IgG wie unter Anwendung anderer Immunsuppressiva auch für Patienten mit einer Everolimus-basierten

Immunsuppression sinnvoll, um rechtzeitig die Indikation zur Immunglobulinsubstitution stellen zu können.

5. Infektionen mit überwiegend moderaten CTCAE-Schweregrad wurden beobachtet. Die niedrige Inzidenz von CMV-Reaktivierungen unter Everolimus erscheint vorteilhaft im Vergleich zu anderen Immunsuppressiva. Der Einsatz einer angepassten Infektionsprophylaxe bei Kombinationsimmunsuppression, unter anderem gegen HSV, VZV und gegen *Aspergillus fumigatus*, ist zu erwägen.
6. Die Verträglichkeit von Everolimus unter Berücksichtigung des Toxizitätsprofils ist gegeben. Häufig sind Lipidstoffwechselstörungen und Infektionen. Unter der Calcineurininhibitor-freien Anwendung von Everolimus wurden keine thrombozytopenischen Mikroangiopathien beobachtet. Wenige häufige Nebenwirkungen wie thromboembolische und kardiovaskulärer Ereignisse sind in der klinischen Anwendung zu beachten.

Nach Versagen der Erstlinientherapie mit Kortikosteroiden bei moderater und chronischer cGvHD kommen für diese Indikation nicht zugelassene Arzneimittel zum Einsatz, basierend auf prospektive und überwiegend retrospektive Studien. Randomisierte Therapiestudien zum organspezifischen Ansprechen von Everolimus im Vergleich zu anderen cGvHD-Behandlungsregimen sind erforderlich, um in Zukunft Behandlungsalgorithmen hinsichtlich einer effektiven organspezifischen Behandlung zu entwickeln. Untersuchungen zu notwendigen Begleittherapien, wie physikalische und supportive Maßnahmen, sollten dabei in geplanten multidisziplinär ausgerichteten Untersuchungen berücksichtigt werden.

8 Literaturverzeichnis

Abrahamsen IW, Sømme S, Heldal D, Egeland T, Kvale T, Tjønnfjord GE. 2005. Immune reconstitution after allogeneic stem cell transplantation: the impact of stem cell source and graft-versus-host disease. *Haematologica*, 90 (1): 86-93.

Akpek G, Zahurak ML, Piantadosi S, Margolis J, Doherty J, Davidson R, Vogelsang GB. 2001. Development of a prognostic model for grading chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 97 (5): 1219-1226.

Anasetti C, Logan BR, Lee SJ, Waller EK, Weisdorf DJ, Wingard JR, Cutler CS, Westervelt P, Woolfrey A, Couban S, Ehninger G, Johnston L, Maziarz RT, Pulsipher MA, Porter DL, Mineishi S, McCarty JM, Khan SP, Anderlini P, Bensinger WI, Leitman SF, Rowley SD, Bredeson C, Carter SL, Horowitz MM, Confer DL; Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network. 2012. Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med*, 367 (16): 1487-1496.

Andrassy J, Hoffmann VS, Rentsch M, Stangl M, Habicht A, Meiser B, Fischereeder M, Jauch KW, Guba M. 2012. Is cytomegalovirus prophylaxis dispensable in patients receiving an mTOR inhibitor-based immunosuppression? A systematic review and meta-analysis. *Transplantation*, 94 (12): 1208-1217. Review.

Araki K, Turner AP, Shaffer VO, Gangappa S, Keller SA, Bachmann MF, Larsen CP, Ahmed R. 2009. mTOR regulates memory CD8 T-cell differentiation. *Nature*, 460 (7251): 108-112.

Arat M, Idilman R, Soydan EA, Soykan I, Erden E, Karayalçin S, Akan H. 2005. Ursodeoxycholic acid treatment in isolated chronic graft-vs.-host disease of the liver. *Clin Transplant*, 19 (6): 798-803.

Apisarnthanarax N, Donato M, Körbling M, Couriel D, Gajewski J, Giralt S, Khouri I, Hosing C, Champlin R, Duvic M, Anderlini P. 2003. Extracorporeal photopheresis therapy in the management of steroid-refractory or steroid-dependent cutaneous chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem

cell transplantation: feasibility and results. *Bone Marrow Transplant*, 31 (6): 459-465.

Baas MC, Gerdes VE, Ten Berge IJ, Heutinck KM, Florquin S, Meijers JC, Bemelman FJ. 2013. Treatment with everolimus is associated with a procoagulant state. *Thromb Res*, 132 (2): 307-311.

Barak V, Levi-Schaffer F, Nisman B, Nagler A. 1995. Cytokine dysregulation in chronic graft versus host disease. *Leuk Lymphoma*, 17 (1-2): 169-173.

Basara N, Blau WI, Römer E, Rudolphi M, Bischoff M, Kirsten D, Sanchez H, Günzelmann S, Fauser AA. 1998. Mycophenolate mofetil for the treatment of acute and chronic GVHD in bone marrow transplant patients. 1998. *Bone Marrow Transplant*, 22 (1): 61-65.

Baselga J, Campone M, Piccart M, Burris HA 3rd, Rugo HS, Sahmoud T, Noguchi S, Gnat M, Pritchard KI, Lebrun F, Beck JT, Ito Y, Yardley D, Deleu I, Perez A, Bachelot T, Vittori L, Xu Z, Mukhopadhyay P, Lebwohl D, Hortobagyi GN. 2012. *N Engl J Med*, 366 (6): 520-529.

Baudard M, Vincent A, Moreau P, Kergueris MF, Harousseau JL, Milpied N. 2002. Mycophenolate mofetil for the treatment of acute and chronic GVHD is effective and well tolerated but induces a high risk of infectious complications: a series of 21 BM or PBSC transplant patients. *Bone Marrow Transplant*, 30(5): 287-295.

Billingham RE, Brent L. 1957. Acquired tolerance in newborn mice. *Ann N Y Acad Sci*, 69 (4): 678-680.

Bisaccia E, Palangio M, Gonzalez J, Adler KR, Scarborough R, Goldberg SL, Rowley SD. 2006. Treatment of extensive chronic graft-versus-host disease with extracorporeal photochemotherapy. *J Clin Apher*, 21 (3): 181-187.

Blazar BR, Murphy WJ, Abedi M. 2012. Advances in graft-versus-host disease biology and therapy. *Nat Rev Immunol*, 12 (6): 443–458.

Bortin MM. 1970. A compendium of reported human bone marrow transplants (Review). *Transplantation*, 9 (6): 571-587.

Bouzas-Mosquera A, Crespo-Leiro MG, Paniagua MJ, Naya C, Grille Z, Marzoa R, Barge-Caballero E, Estévez-Cid F, Alvarez-García N, Cuenca JJ, Castro-Beiras A. 2008. Adverse effects of mammalian target of rapamycin inhibitors during the postoperative period after cardiac transplantation. *Transplant Proc*, 40 (9): 3027-3030.

Brownback KR, Simpson SQ, Pitts LR, Polineni D, McGuirk JP, Ganguly S, Aljitawi OS, Lin TL, Singh A, Abhyankar S. 2016. Effect of extracorporeal photopheresis on lung function decline for severe bronchiolitis obliterans syndrome following allogeneic stem cell transplantation. *J Clin Apher*, 31 (4): 347-352.

Buchkovich NJ, YU Y, Zampieri CA, Alwine JC. 2008. The TORrid affairs of viruses: effects of mammalian DNA viruses on the PI3K-Akt-mTOR signalling pathway. *Nat Rev Microbiol*, 6 (4): 266-275.

Buckner CD, Epstein RB, Rudolph RH, Clift RA, Storb R, Thomas ED. 1970. Allogeneic marrow engraftment following whole body irradiation in a patient with leukemia. *Blood*, 35 (6): 741-750.

Budde K, Becker T, Arns W, Sommerer C, Reinke P, Eisenberger U, Kramer S, Fischer W, Gschaidmeier H, Pietruck F; ZEUS Study Investigators. 2011. Everolimus-based, calcineurin-inhibitor-free regimen in recipients of de-novo kidney transplants: an open-label, randomized, controlled trial. *Lancet*, 377 (9858): 837-847.

Busca A, Saroglia EM, Lanino E, Manfredini L, Uderzo C, Nicolini B, Messina C, Rabusin M, Miniero R. 2000. Mycophenolate mofetil (MMF) as therapy for refractory chronic GVHD (cGVHD) in children receiving bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 25 (10): 1067-1071.

Busca A, Locatelli F, Marmont F, Audisio E, Falda M. 2003. Response to mycophenolate mofetil therapy in refractory chronic graft-versus-host disease. *Haematologica*, 88 (7): 837-839.

Carpenter PA, Kitko CL, Elad S, Flowers ME, Gea-Banacloche JC, Halter JP, Hoodin F, Johnston L, Lawitschka A, McDonald GB, Opipari AW, Savani BN, Schultz KR, Smith SR, Syrjala KL, Treister N, Vogelsang GB, Williams KM, Pavletic SZ, Martin PJ, Lee SJ, Couriel DR. 2014. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: V. The 2014 Ancillary Therapy and Supportive Care Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transplant*, 21 (7): 1167-1187.

Ceppellini R, Mattiuz PL, Scudeller G, Visetti M. 1969. Experimental allotransplantation in man. I. The role of the HL-A system different genetic combinations. *Transplant Proc*, 1 (1): 385-389.

Chambers J, Reed N, Mansoor W, Ross P, Grossman A. 2010. Phase-3 randomized trial of everolimus (RAD001) vs. placebo in advanced pancreatic NET (RADIANT-3). *Regul Pept*, 164 (9): 6-7.

Chapmann TM, Perry CM. 2004. Everolimus. *Drugs*, 64 (8): 861-872.

Cibrik D, Silva HT Jr, Vathsala A, Lackova E, Cornu-Artis C, Walker RG, Wang Z, Zibari GB, Shihab F, Kim YS. 2013. Randomized trial of everolimus-facilitated calcineurin inhibitor minimization over 24 months in renal transplantation. *Transplantation*, 95 (7): 933-942.

Clippinger AJ, Maguire TG, Alwine JC. 2011. The changing role of mTOR kinase in the maintenance of protein synthesis during human cytomegalovirus infection. *J Virol*, 85 (8): 3930-3939.

Couriel DR, Saliba R, Escalón MP, Hsu Y, Ghosh S, Ippoliti C, Hicks K, Donato M, Giralt S, Khouri IF, Hosing C, de Lima MJ, Andersson B, Neumann J, Champlin R. 2005. Sirolimus in combination with tacrolimus and corticosteroids for the treatment of resistant chronic graft-versus-host disease. *Br J Haematol*, 130 (3): 409-417.

Couriel D, Hosing C, Saliba R, Shpall EJ, Andelini P, Popat U, Donato M, Champlin R. 2006. Extracorporeal photopheresis for acute and chronic graft-versus-host disease: does it work? *Biol Blood Marrow Transplant*, 12 (1 Suppl 2): 37-40.

Cutler C, Henry NL, Magee C, Li S, Kim HT, Alyea E, Ho V, Lee SJ, Soiffer R, Antin JH. 2005. Sirolimus and thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 11 (7): 551-557.

Cutler C, Miklos D, Kim HT, Treister N, Woo SB, Bienfang D, Klickstein LB, Levin J, Miller K, Reynolds C, Macdonell R, Pasek M, Lee SJ, Ho V, Soiffer R, Antin JH, Ritz J, Alyea E. 2006. Rituximab for steroid-refractory chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 108 (2): 756-762.

Cutler C, Stevenson K, Kim HT, Richardson P, Ho VT, Linden E, Revta C, Ebert R, Warren D, Choi S, Koreth J, Armand P, Alyea E, Carter S, Horowitz M, Antin JH, Soiffer R. 2008. Sirolimus is associated with veno-occlusive disease of the liver after myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, 2008 112 (12): 4425-4431.

Dander E, Balduzzi A, Zappa G, Lucchini G, Perseghin P, André V, Todisco E, Rahal D, Migliavacca M, Longoni D, Solinas G, Villa A, Berti E, Mina PD, Parma M, Allavena P, Biagi E, Rovelli A, Biondi A, D'Amico G. 2009. Interleukin-17-producing T-helper cells as new potential player mediating graft-versus-host disease in patients undergoing allogeneic stem-cell transplantation. *Transplantation*, 88 (11): 1261-1272.

D'Asaro M, Dieli F, Caccamo N, Musso M, Porretto F, Salerno A. 2006. Increase of CCR7- CD45RA+ CD8 T cells (T(EMRA)) in chronic graft-versus-host disease. *Leukemia*, 20 (3): 545-547.

Dausset J. 1958. Iso-leuko-antibodies. *Acta Haematol*, 20 (1-4): 156-166.

Deeg HJ. 2007. How I treat refractory acute GvHD. *Blood*, 10 (10): 4119-4126.

De Simone P, Nevens F, De Carlis L, Metselaar HJ, Beckebaum S, Saliba F, Jonas S, Sudan D, Fung J, Fischer L, Duvoux C, Chavin KD, Koneru B, Huang MA, Chapman WC, Foltys D, Witte S, Jiang H, Hexham JM, Junge G; H2304 Study Group. 2012. Everolimus with reduced tacrolimus improves renal function in de novo liver transplant recipients: a randomized controlled trial. *Am J Transplant*, 12 (11): 3008-3020.

Dignan FL, Scarisbrick JJ, Cornish J, Clark A, Amrolia P, Jackson G, Mahendra P, Taylor PC, Shah P, Lightman S, Fortune F, Kibbler C, Andreyev J, Albanese A, Hadzic N, Potter MN, Shaw BE; Haemato-oncology Task Force of British Committee for Standards in Haematology; British Society for Blood and Marrow Transplantation. 2012. Organ-specific management and supportive care in chronic graft-versus-host disease. *Br J Haematol*, 158 (1): 62-78.

Eisen HJ, Tuzcu EM, Dorent R, Kobashigawa J, Mancini D, Valentine-von Kaeppler HA, Starling RC, Sørensen K, Hummel M, Lind JM, Abeywickrama KH, Bernhardt P; RAD B253 Study Group. 2003. Everolimus for the prevention of allograft rejection and vasculopathy in cardiac-transplant recipients. *N Engl J Med*, 349 (9): 847-858.

Ferrara JL, Levy R, Chao NJ et al. 1999. Pathophysiologic mechanisms of acute graft versus host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 5 (6): 347-356.

Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E, 2009. Graft-versus-host disease. *Lancet*, 373 (9674): 1550-1561.

Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, Martin P, Chien J, Przepiorka D, Couriel D, Cowen EW, Dinndorf P, Farrell A, Hartzman R, Henslee-Downey J, Jacobsohn D, McDonald G, Mittleman B, Rizzo JD, Robinson M, Schubert M, Schultz K, Shulman H, Turner M, Vogelsang G, Flowers ME. 2005. National Institutes of health consensus development on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*, 11 (12): 945-956.

Finke J, Bethge WA, Schmoor C, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, Volin L, Ruutu T, Heim DA, Schwerdtfeger R, Kolbe K, Mayer J, Maertens JA, Linkesch

W, Holler E, Koza V, Bornhäuser M, Einsele H, Kolb HJ, Bertz H, Egger M, Grishina O, Socié G; ATG-Fresenius Trial Group. 2009. Standard graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin in haemotopoietic cell transplantation from matched unrelated donor: a randomized, open-label, multicentre phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 10 (9): 855-864.

Fischer L, Kaiser G, Koneru B, Toselli L, Durand F, Heaton N, Shetty K, Dong G, Lopez P, Junge G, Kovarik J. 2013. Effects of Everolimus and Tacrolimus exposure on efficacy and renal function in liver transplant recipients at 24 months in a randomized trial (H2304). *Am J Transplant*, 13 (suppl 5): 117-118.

Fisher RA. 1922. On the interpretation of χ^2 from contingency tables, and the calculation of *P*. *J Royal Statist Soc*, 85 (1): 87-84.

Flowers ME, Apperley JF, van Besien K, Elmaagacli A, Grigg A, Reddy V, Bacigalupo A, Kolb HJ, Bouzas L, Michallet M, Prince HM, Knobler R, Parenti D, Gallo J, Greinix HT. 2008. A multicenter prospective phase 2 randomized study of extracorporeal photopheresis for treatment of chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 112 (7): 2667-2674.

Flowers ME, Martin PJ. 2015. How we treat chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 125 (4): 606 – 615. Review.

Foss FM, DiVenuti GM, Chin K, Sprague K, Grodman H, Klein A, Chan G, Stiffler K, Miller KB. 2005. Prospective study of extracorporeal photopheresis in steroid-refractory or steroid-resistant extensive chronic graft-versus-host disease: analysis of response and survival incorporating prognostic factors. *Bone Marrow Transplant*, 35 (12): 1187-1193.

Fried RH, Murakami CS, Fisher LD, Willson RA, Sullivan KM, McDonald GB. 1992. Ursodeoxycholic acid treatment of refractory chronic graft-versus-host disease of the liver. *Ann Intern Med*, 116 (8): 624-629.

Fujii H, Cuvelier G, She K, Aslanian S, Shimizu H, Kariminia A, Krailo M, Chen Z, McMaster R, Bergman A, Goldman F, Grupp SA, Wall DA, Gilman AL, Schultz KR. 2008. Biomarkers in newly diagnosed pediatric-extensive chronic

graft-versus-host disease: a report from the Children's Oncology Group. *Blood*, 111 (6): 3276-3285.

Glucksberg H, Storb R, Fefer A., Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, Lerner KG, Storb R, Thomas ED. 1974. Clinical manifestations of graft versus host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. *Transplantation*, 18 (4): 295-304.

Greinix HT, Volc-Platzer B, Rabitsch W, Gmeinhardt B, Guevara-Pineda C, Kalhs P, Krutmann J, Hönigsmann H, Ciofica M, Knobler RM. 1998. Successful use of extracorporeal photochemotherapy in the treatment of severe acute and chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 92 (9): 3098-3104.

Greinix HT, Socié G, Bacigalupo A, Holler E, Edinger MG, Apperley JF, Schwarz T, Ullrich SE, Albert ML, Knobler RM, Peritt D, Ferrara JL. 2006. Assessing the potential role of photopheresis in hematopoietic stem cell transplant. *Bone Marrow Transplant*, 38 (4): 265-273.

Greinix HT, Pohlreich D, Kouba M, Körmöczy U, Lohmann I, Feldmann K, Zielinski C, Pickl WF. 2008. Elevated numbers of immature/transitional CD21-B lymphocytes and deficiency of memory CD27+ B cell identify patients with active chronic graft-versus-host-disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 14 (2): 208-219.

Hautmann AH, Wolff D, Hilgendorf I, Fehn U, Edinger M, Hoffmann P, Herr W, Kölbl O, Holler B, Sporrer D, Holler E, Hautmann MG. 2015. Total nodal irradiation in patients with severe treatment-refractory chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: Response rates and immunomodulatory effects. *Radiother Oncol*, 116 (2): 287-293.

Hentges KE, Sirry B, Gingeras AC, Sarbassov D, Sonenberg N, Sabatini D, Peterson AS. 2006. FRAB/mTOR is required for proliferation and patterning during embryonic development in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 98 (24): 13796-13801.

Herrera AF, Kim HT, Bindra B, Jones KT, Alyea EP 3rd, Armand P, Cutler CS, Ho VT, Nikiforow S, Blazar BR, Ritz J, Antin JH, Soiffer RJ, Koreth J. 2014. A phase II study of bortezomib plus prednisone for initial therapy of chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 20 (11): 1737-1743.

Hettinga YM, Verdonck LF, Fijnheer R, Rijkers GT, Rothova A. 2007. Anterior uveitis: a manifestation of graft-versus-host disease. *Ophthalmology*, 114 (4): 794-797.

Hildebrandt GC, Fazekas T, Lawitschka A, Bertz H, Greinix H, Halter J, Pavletic SZ, Holler E, Wolff D. 2011. Diagnosis and treatment of pulmonary chronic GVHD: report from the consensus conference on clinical practice in chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant*, 46 (10): 1283-1295. Review.

Jagasia M, Giglia J, Chinratanalab W, Dixon S, Chen H, Frangoul H, Engelhardt B, Goodman S, Greer J, Kassim A, Morgan D, Ruffner K, Schuening F. 2007. Incidence and outcome of chronic graft-versus-host disease using National Institutes of Health consensus criteria. *Biol Blood Marrow Transplant*, 13 (10): 1207-1215.

Jedlickova Z, Burlakova I, Bug G, Baurmann H, Schwerdtfeger R, Schleuning M. 2011. Therapy of sclerodermatous chronic graft-versus-host disease with mammalian target of rapamycin inhibitors. *Biol Blood Marrow Transplant*, 17 (5): 657-663.

Johnston LJ, Brown J, Shizuru JA, Stockerl-Goldstein KE, Stuart MJ, Blume KG, Negrin RS, Chao NJ. 2005. Rapamycin (sirolimus) for treatment of chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 11 (1): 47-55.

Jurado M, Vallejo C, Pérez-Simón JA, Brunet S, Ferra C, Balsalobre P, Pérez-Oteyza J, Espigado I, Romero A, Caballero D, Sierra J, Ribera JM, Díez JL. 2007. Sirolimus as part of immunosuppressive therapy for refractory chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 13 (6): 701-706.

Kahan BD, Wong RL, Charter C, Katz SH, Von Fellenberg J, Van Buren CT, Appel-Dingemanse S. 1999. A phase I study of a 4-week course of SDZ-RAD

(RAD) quiescent cyclosporine-prednisone-treated renal transplant recipients. *Transplantation*, 68 (8): 1100-1106.

Kansu E, Gooley T, Flowers ME, Anasetti C, Deeg HJ, Nash RA, Sanders JE, Witherspoon RP, Appelbaum FR, Storb R, Martin PJ. 2001. Administration of cyclosporine for 24 months compared with 6 months for prevention of chronic graft versus host disease: A prospective randomised clinical trial. *Blood*, 98 (13): 3868-3870.

Kaplan E, Meier P. 1958. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc*, 53 (282): 457-481.

Keller F, Wiesner S, Bunjes D, Hartmann B, Schmitt M. Safety and efficacy of everolimus after kidney and hematopoietic stem cell transplantation. 2012. *Ann Transplant*, 17 (4): 52-58.

Kharfan-Dabaja MA, Mhaskar AR, Djulbegovic B, Cutler C, Mohty M, Kumar A. 2009. Efficacy of rituximab in the setting of steroid-refractory chronic graft-versus-host disease: a systematic review and meta-analysis *Biol Blood Marrow Transplant*, 15 (9): 1005-1013. Review.

Kim DY, Lee JH, Lee JH, Kim SH, Lim SN, Kim SD, Choi Y, Lee YS, Kang YA, Kang SI, Seol M, Ryu SG, Lee KH. 2010. Reevaluation of the National Institutes of Health criteria for classification and scoring of chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant*, 45 (7): 1174-1180.

Kim SK. Ocular graft vs. host disease. 2005. *Ocul Surf*, 3 (4 Suppl): 177-179.

Kirchner GI, Winkler M, Mueller L, Vidal C, Jacobsen W, Franzke A, Wagner S, Blick S, Manns MP, Sewing KF. 2000. Pharmacokinetics of SDZ RAD and cyclosporin including their metabolites in seven kidney graft patients after the first dose of SDZ RAD. *Br J Clin Pharmacol*, 50 (5): 449-454.

Klink A, Schilling K, Rapp K, Höffken K, Sayer H.G. 2008. High overall response rate in calcineurin inhibitor-free treatment with the mTOR inhibitor

everolimus in advanced extensive chronic GvHD after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, 112 (11 Suppl): 2210.

Kobayashi S, Imamura M, Hashino S, Tanaka J, Asaka M. Clinical relevance of serum soluble interleukin-2 receptor levels in acute and chronic graft-versus-host disease. *Leuk Lymphoma*, 28 (1-2): 159-169.

Koch M. 2009. Everolimus in liver and lung transplantation. In: *Drugs Today*, 45 (1): 11–20.

Kovarik JM, Kahan BD, Kaplan B, Lorber M, Winkler M, Rouilly M, Gerbeau C, Cambon N, Boger R, Rordorf C. 2001. Longitudinal assessment of everolimus in de novo renal transplant recipients over the first post-transplant year: pharmacokinetics, exposure-response relationships, and influence on cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther*, 69 (1): 48-56.

Kovarik JM, Sabia HD, Figueiredo J, Zimmermann H, Reynolds C, Dilzer SC, Lasseter K, Rordorf C. 2001a. Influence of hepatic impairment on everolimus pharmacokinetics: implications for dose adjustment. *Clin Pharmacol Ther*, 70 (5): 425-430.

Kuhn B, Jacobsen W, Christians U, Benet LZ, Kollman PA. 2001. Metabolism of sirolimus and its derivative everolimus by cytochrome P450 3A4: insights from docking, molecular dynamics, and quantum chemical calculations. *J Med Chem*, 44 (12): 2027-2034.

Kuzmina Z, Greinix HT, Weigl R, Körmöczi U, Rottal A, Frantal S, Eder S, Pickl WF. 2011. Significant differences in B-cell subpopulations characterize patients with chronic graft-versus-host disease-associated dysgammaglobulinemia. *Blood*, 117 (7): 2265-2274.

Kuzmina Z, Eder S, Böhm A, Pernicka E, Vormitta L, Kalhs P, Petkov V, Stary G, Nepp J, Knobler R, Just U, Krenn K, Worel N, Greinix HT. 2012. Significantly worse survival of patients with NIH-defined chronic graft-versus-host disease and thrombocytopenia or progressive onset type: results of a prospective study. *Leukemia*, 26 (4): 746-756.

Lee SJ, Vogelsang G, Flowers ME. 2003. Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 9 (4): 215-233.

Levy G, Schmidli H, Punch J, Tuttle-Newhall E, Mayer D, Neuhaus P, Samuel D, Nashan B, Klempnauer J, Langnas A, Calmus Y, Rogiers X, Abecassis M, Freeman R, Sloof M, Roberts J, Fischer L. 2006. Safety, tolerability, and efficacy of everolimus in de novo liver transplant recipients: 12- and 36-month results. *Liver Transpl*, 12 (11): 1640-1648.

Li H, Pauza CD. 2011. Rapamycin increases the yield and effector function of human $\gamma\delta$ T cells stimulated in vitro. *Cancer Immunol Immunother*, 60 (3): 361-370.

Liem LM, van Houwelingen HC, Goulmy E. 1998. Serum cytokine levels after HLA-identical bone marrow transplantation. *Transplantation*, 66 (7): 863-871.

Lopez F, Parker P, Nademanee A, Rodriguez R, Al-Kadhimi Z, Bhatia R, Cohen S, Falk P, Fung H, Kirschbaum M, Krishnan A, Kogut N, Molina A, Nakamura R, O'Donnell M, Popplewell L, Pullarkat V, Rosenthal J, Sahebi F, Smith E, Snyder D, Somlo G, Spielberger R, Stein A, Sweetman R, Zain J, Forman S. 2005. Efficacy of mycophenolate mofetil in the treatment of chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 11 (4): 307-313.

Lucid CE, Savani BN, Engelhardt BG, Shah P, Clifton C, Greenhut SL, Vaughan LA, Kassim A, Schuening F, Jagasia M. 2011. Extracorporeal photopheresis in patients with refractory bronchiolitis obliterans developing after allo-SCT. *Bone Marrow Transplant*, 46 (3): 426-429.

Majhail NS, Schiffer CA, Weisdorf DJ. 2006. Improvement of pulmonary function with imatinib mesylate in bronchiolitis obliterans following allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 12 (7): 789-791.

Malik MI, Litzow M, Hogan W, Patnaik M, Murad MH, Prokop LJ, Winters JL, Hashmi S. 2014. Extracorporeal photopheresis for chronic graft-versus-host disease: a systematic review and meta-analysis. *Blood Res*, 49 (2): 100-106.

Marks C, Stadler M, Häusermann P, Wolff D, Buchholz S, Stary G, Lee S, Lawitschka A, Bertz H. 2011. German-Austrian-Swiss Consensus Conference on clinical practice in chronic graft-versus-host disease (GVHD): guidance for supportive therapy of chronic cutaneous and musculoskeletal GVHD. *Br J Dermatol*, 165 (1): 18-29.

Mantel N. 1966. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep*, 50 (3): 163-170.

Masetti M, Rompianesi G, Montalti R, Romano A, Spaggiari M, Ballarin R, Guerrini GP, Gerunda GE. 2008. Effects of everolimus monotherapy on hematological parameters and iron homeostasis in de novo liver transplant recipients: preliminary results. *Transplant Proc*, 40 (6): 1947-1949.

Mielke S, Lutz M, Schmidhuber J, Kapp M, Ditz D, Ammer J, Einsele H, Grigoleit GU, Holler E, Wolff D. 2014. Salvage therapy with everolimus reduces the severity of treatment-refractory chronic GVHD without impairing disease control: a dual center retrospective analysis. *Bone Marrow Transplant*, 49 (11): 1412-1418.

Miura Y, Thoburn CJ, Bright EC, Phelps ML, Shin T, Matsui EC, Matsui WH, Arai S, Fuchs EJ, Vogelsang GB, Jones RJ, Hess AD. 2004. Association of Foxp3 regulatory gene expression with graft-versus-host disease. *Blood*, 104 (7): 2187-2193.

Morales J, Fierro A, Benavente D, Zehnder C, Ferrario M, Contreras L, Herzog C, Buckel E. 2007. Conversion from a calcineurin inhibitor-based immunosuppressive regimen to everolimus in renal transplant recipients: effect on renal function and proteinuria. *Transplant Proc*, 39 (3): 591-593.

Moorman NJ, Shenk T. 2010. Rapamycin-resistant mTORC1 kinase activity is required for herpesvirus replication. *J Virol*, 84 (10): 5260-5269.

Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, Hutson TE, Porta C, Bracarda S, Grünwald V, Thompson JA, Figlin RA, Hollaender N, Urbanowitz G, Berg WJ, Kay A, Lebwohl D, Ravaud A; Record-1 Study Group. 2008. Efficacy of everolimus in

advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet*, 372 (9637): 449-459.

Nagler A, Menachem Y, Ilan Y. 2001. Amelioration of steroid-resistant chronic graft-versus-host-mediated liver disease via tacrolimus treatment. *J Hematother Stem Cell Res*, 10 (3): 411-417.

Namba DR, Ma G, Samad I, Ding D, Pandian V, Powell JD, Horton MR, Hillel AT. 2015. Rapamycin inhibits human laryngotracheal stenosis-derived fibroblast proliferation, metabolism, and function in vitro. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 152 (5): 881-888.

Nashan B. 2001. The role of Certican (everolimus, RAD) in the many pathways of chronic rejection. *Transplantation Proc*, 33 (7-8): 3215-3220.

Nashan B, Citterio F. 2012. Wound healing complications and the use of mammalian target of rapamycin inhibitors in kidney transplantation: a critical review of the literature. *Transplantation*, 94 (6): 547-561.

Nava F, Cappelli G, Mori G, Granito M, Magnoni G, Botta C, Solazzo A, Fontana F, Baisi A, Bonucchi D. 2014. Everolimus, cyclosporine, and thrombotic microangiopathy: clinical role and preventive tools in renal transplantation. *Transplantation Proc*, 46 (7): 2263-2268.

Neumayer HH, Paradis K, Korn A, Jean C, Fritsche L, Budde K, Winkler M, Kliem V, Pichlmayr R, Hauser IA, Burkhardt K, Lison AE, Barndt I, Appel-Dingemanse S. 1999. Entry-into-human study with the novel immunosuppressant SDZ RAD in stable renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol*, 48 (5): 694-703.

Nikiforow S, Kim HT, Bindra B, McDonough S, Glotzbecker B, Armand P, Koreth J, Ho VT, Alyea EP 3rd, Blazar BR, Ritz J, Soiffer RJ, Antin JH, Cutler CS. 2013. Phase I study of alemtuzumab for therapy of steroid-refractory chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 19 (5): 804-811.

Olivieri A, Locatelli F, Zecca M, Sanna A, Cimminiello M, Raimondi R, Gini G, Mordini N, Balduzzi A, Leoni P, Gabrielli A, Bacigalupo A. 2009. Imatinib for refractory chronic graft-versus-host disease with fibrotic features. *Blood*, 114 (3): 709-718.

Olivieri A, Cimminiello M, Corradini P, Mordini N, Fedele R, Selleri C, Onida F, Patriarca F, Pavone E, Svegliati S, Gabrielli A, Bresciani P, Nuccorini R, Pascale S, Coluzzi S, Pane F, Poloni A, Olivieri J, Leoni P, Bacigalupo A. 2013. Long-term outcome and prospective validation of NIH response criteria in 39 patients receiving imatinib for steroid-refractory chronic GVHD. *Blood*, 122 (25): 4111-4118.

Parody R, Sureda A. 2016. Mesenchymal stromal cells for steroid-refractory acute GVHD. *Lancet Haematol*, 3 (1): e8-9. doi: 10.1016/S2352-3026(15)00252-5.

Pérez-Simón JA, Sánchez-Abarca I, Díez-Campelo M, Caballero D, San Miguel J. 2006. Chronic graft-versus-host disease: Pathogenesis and clinical management. *Drugs*, 66 (8): 1041-1057. Review.

Pérez-Simón JA, Encinas C, Silva F, Arcos MJ, Díez-Campelo M, Sánchez-Guijo M, Colado E, Martín J, Vázquez L, del Cañizo C, Caballero D, San Miguel J. 2008. Prognostic factors of chronic graft-versus-host disease following allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: the national institutes health scale plus the type of onset can predict survival rates and the duration of immunosuppressive therapy. *Biol Blood Marrow Transplant*, 14 (10): 1163-1171.

Platzbecker U, von Bonin M, Goekkurt E, Radke J, Binder M, Kiani A, Stoeilmacher J, Schetelig J, Thiede C, Ehninger G, Bornhäuser M. 2009. Graft-versus-host disease prophylaxis with everolimus and tacrolimus is associated with a high incidence of sinusoidal obstruction syndrome and microangiopathy: results of the EVTAC trial. *Biol Blood Marrow Transplant*, 15 (1): 101–108.

Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J, Thomas ED. 1995. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant*, 15 (6): 825-828. Review.

Reddy P, Ferrara JLM. 2003. Immunobiology of acute graft-versus-host disease. *Blood Rev*, 17 (4): 187-194. Review.

Reig Mezquida JP, Jover AS, Ansótegui Barrera E, Escrivá Peiró J, Pastor Colom MD, Pastor Guillem J. 2015. Thrombotic microangiopathy associated with tacrolimus in lung transplantation. *Arcv. Bronconeumol*, 51 (5): e23-4. doi: 10.1016/j.arbres.2014.07.004.

Rodríguez-Moreno A, Ridao N, García-Ledesma P, Calvo N, Pérez-Flores I, Marques M, Barrientos A, Sánchez-Fructuoso AI. 2009. Sirolimus and everolimus induced pneumonitis in adult renal allograft recipients: experience in a center. *Transplant Proc*, 41 (6): 2163-2165.

Rozmus J, Schultz KR, Wynne K, Kariminia A, Satyanarayana P, Krailo M, Grupp SA, Gilman AL, Goldman FD. 2011. Early and late extensive chronic graft-versus-host disease in children is characterized by different Th1/Th2 cytokine profiles: findings of the Children's Oncology Group Study ASCT0031. *Biol Blood Marrow Transplant*, 17 (12): 1804-1813.

Ruutu T, Eriksson B, Remes K, Juvonen E, Volin L, Remberger M, Parkkali T, Hägglund H, Ringdén O; Nordic Bone Marrow Transplantation Group. 2002. Ursodeoxycholic acid for the prevention of hepatic complications in allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, 100 (6): 1977-1983.

Ruutu T, Juvonen E, Remberger M, Remes K, Volin L, Mattsson J, Nihtinen A, Hägglund H, Ringdén O; Nordic Group for Blood and Marrow Transplantation. 2014. Improved survival with ursodeoxycholic acid prophylaxis in allogeneic stem cell transplantation: long-term follow-up of a randomized study. *Biol Blood Marrow Transplant*, 20 (1): 135-138.

Säemann MD, Haidinger M, Heicking M, Hörl WH, Weichhart T. 2009. The multifunctional role of mTOR in innate immunity: implications for transplant immunity. *Am J Transplant*, 9 (12): 2655-2661. Review.

Salas-Prato M, Assalian A, Mehdi AZ, Duperré J, Thompson P, Brazeau P. 1996. Inhibition by rapamycin of PDGF- and bFGF-induced human tenon fibroblast proliferation in vitro. *J Glaucoma*, 5 (1): 54-59.

Sánchez-Ortega I, Parody R, Servitje O, Muniesa C, Arnan M, Patino B, Sureda A, Duarte RF. 2016. Imatinib and dasatinib as salvage therapy for sclerotic chronic graft-vs-host disease. *Croat Med J*, 57 (3): 247-354.

Santos GW, Sensenbrenner LL, Burke PJ, Mullins GM, Anderson PN, Tutschka PJ, Braine HG, Davis TE, Humphrey RL, Abelhoff MD, Bias WB, Borgaonkar DS, Slavin RE. 1974. Allogeneic marrow grafts in man using cyclophosphamide. *Transplant Proc*, 6 (4): 345-348.

Schmitt T, Luft T, Hegenbart U, Tran TH, Ho AD, Dreger P. Pentostatin for treatment of steroid-refractory acute GVHD: a retrospective single-center analysis. 2011. *Bone Marrow Transplant*, 46 (4): 580-585.

Spearman C. 1904. "General intelligence", objectively determined and measured. *Amer J Psychol*, 15 (2): 201-293.

Spinelli S, Chiodi S, Costantini S, Van Lint MT, Raiola AM, Ravera GB, Bacigalupo A. 2003. Female genital tract graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation. *Haematologica*, 88 (10): 1163-1168.

Stadler M, Ahlborn R, Kamal H, Diedrich H, Buchholz S, Eder M, Ganser A. 2009. Limited efficacy of imatinib in severe pulmonary chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 114 (17): 3718-3719.

Stratton P, Turner ML, Childs R, Barrett J, Bishop M, Wayne AS, Pavletic S. 2007. Vulvovaginal chronic graft-versus-host disease with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Obstet Gynecol*, 110 (5): 1041-1049.

Tabbara KF, Al-Ghamdi A, Al-Mohareb F, Ayas M, Chaudhri N, Al-Sharif F, Al-Zahrani H, Mohammed SY, Nassar A, Aljurf M. 2009. Ocular findings after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ophthalmology*, 116 (9): 1624-1629.

Tedesco SH, Cibrik D, Johnston T, Lackova E, mange K, Panis C, Walker R, Wang Z, Zibari G, Kim YS. 2010. Everolimus plus reduced-exposure CsA versus mycophenolic acid plus standard-exposure CsA renal-transplant recipients. *Am J Transplant*, 10 (6): 1401-1413.

Thomas ED, Lochte HL Jr, Lu WC, Ferrebee JW. 1957. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med*, 257 (11): 491-496.

Thomas ED, Buckner CD, Clift RA, Fefer A, Johnson FL, Neiman PE, Sale GE, Sanders JE, Singer JW, Shulman H, Storb R, Weiden PL. 1979. Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission. *N Engl J Med*, 301 (11): 597-599.

Ussowicz M, Musiał J, Mielcarek M, Tomaszewska A, Nasiłowska-Adamska B, Kałwak K, Gorczyńska E, Mariańska B, Chybicka A. 2013. Steroid-sparing effect of extracorporeal photopheresis in the therapy of graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant Proc*, 45 (9): 3375-3380.

Van Bekkum DW, Vos O, Weyzen WW. 1959. The pathogenesis of the secondary disease following foreign bone marrow transplantation in irradiated mice. *Bull Soc Int Chir*, 18 (3): 302-314.

Vincent HA, Ziehr B, Moorman NJ. 2016. Human Cytomegalovirus Strategies to Maintain and Promote mRNA Translation. *Viruses*, 8 (4): 97. doi: 10.3390/v8040097. Review.

Vitko S, Tedesco H, Eris J, Pascual J, Whelchel J, Magee JC, Campbell S, Civati G, Bourbigot B, Alves Filho G, Leone J, Garcia VD, Rigotti P, Esmeraldo R, Cambi V, Haas T, Jappe A, Bernhardt P, Geissler J, Cretin N. 2004. Everolimus with optimized cyclosporine dosing in renal transplant recipients: 6-month safety and efficacy results of two randomized studies. *Am J Transplant*, 4 (4): 626-635.

Vogelsang GB. 2001. How I treat chronic graft versus-host-disease. *Blood*. 97 (5): 1196-1201.

Wang Y, Xu LP, Liu DH, Chen H, Chen YH, Han W, Liu KY, Huang XJ. 2009. First-line therapy for chronic graft-versus-host disease that includes low-dose methotrexate is associated with a high response rate. *Biol Blood Marrow Transplant*, 15 (4): 505-511.

Watkins TR, Chien JW, Crawford SW. 2005. Graft versus host-associated pulmonary disease and other idiopathic pulmonary complications after hematopoietic stem cell transplant. *Semin Respir Crit Care Med*, 26 (5): 482-489. Review.

Webster AC, Lee VW, Chapman JR, Craig JC. 2006. Target of rapamycin inhibitors (sirolimus and everolimus) for primary immunosuppression of kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Transplantation*, 81 (9): 1234-1248. Review.

Westeneng AC, Hettinga Y, Lokhorst H, Verdonck L, van Dorp S, Rothova A. 2010. Ocular graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Cornea*, 29 (7): 758-763.

Wilcoxon F. 1945. Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics Bulletin*, 1 (6): 80-83.

Wolff D, Gerbitz A, Ayuk F, Kiani A, Hildebrandt B, Vogelsang GB, Elad S, Lawitschka A, Socie G, Pavletic SZ, Holler E, Greinix H. 2010. Consensus conference on clinical practice in chronic graft-versus-host disease (GVHD): first-line and topical treatment on chronic GVHD. *Biol Blood Marrow Transplant*, 16 (12): 1611-1628.

Wolff D, Schleuning M, von Harsdorf S, Bacher U, Gerbitz A, Stadler M, Ayuk F, Kiani A, Schwerdtfeger R, Vogelsang GB, Kobbe G, Gramatzki M, Lawitschka A, Mothly M, Pavletic SZ, Greinix H, Holler E. 2011. Consensus conference on clinical practice in chronic graft-versus-host disease (GVHD):

Second-Line Treatment of chronic Graft-versus-Host-Disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 17 (1): 1-17.

Yamashita K, Choi U, Woltz PC, Foster SF, Sneller MC, Hakim FT, Fowler DH, Bishop MR, Pavletic SZ, Tamari M, Castro K, Barrett AJ, Childs RW, Illei GG, Leitman SF, Malech HL, Horwitz ME. 2004. Severe chronic graft-versus-host disease is characterized by a preponderance of CD4(+) effector memory cells relative to central memory cells. *Blood*, 103 (10): 3986-3988.

Yao JC, Shah MH, Ito T, Bohas CL, Wolin EM, Van Cutsem E, Hobday TJ, Okusaka T, Capdevila J, de Vries EG, Tomassetti P, Pavel ME, Hoosen S, Haas T, Lincy J, Lebwohl D, Öberg K; RAD001 in Advanced Neuroendocrine Tumors Third trial (RADIANT-3) Study Group. 2011. Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med*, 364 (6): 514-523.

Yao JC, Fazio N, Singh S, Buzzoni R, Carnaghi C, Wolin E, Tomasek J, Raderer M, Lahner H, Voi M, Bubuteishvili Pacaud L, Rouyrre N, Sachs C, Valle JW, Delle Fave G, Van Cutsem E, Tesselaar M, Shimada Y, Oh D-Y, Strosberg J, Kulke MH, Pavel ME for the Advanced Neuroendocrine Tumors, Fourth Trial (Radiant-4) Study Group. 2016. Everolimus for the treatment of advanced, non-functional neuroendocrine tumours of the lung or gastrointestinal tract (RADIANT-4): a randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet*, 387 (100022): 968-977.

Yilmaz VT, Koçak H, Avcı AB, Salim O, Ersoy FF, Süleymanlar G. 2011. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with everolimus use in a renal transplant patient. *Int Urol Nephrol*, 43 (2): 581-584.

Yunis EJ, Dupont B, Hansen J. 1976. Immunogenetic aspects of allotransplantation. *Adv Exp Med Biol*, 73 Pt B: 231-251. Review.

Zantomio D, Grigg AP, MacGregor L, Panek-Hudson Y, Szer J, Ayton R. 2006. Female genital tract graft-versus-host disease: incidence, risk factors and recommendations for management. *Bone Marrow Transplant*, 38 (8): 567-572.

9 Anhang

9.1 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

9.2 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönliche Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Erstellung des Manuskripts unterstützt haben:
Herr Prof. Dr. med. A. Hochhaus, Frau PD Dr. med. I. Hilgendorf,
Herr PD Dr. med. H.G. Sayer, Frau Dr. K. med. Schilling und Frau K. Kluziok,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und das Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 31.03.2017

Anne Klink

9.3 Danksagung

Großer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Andreas Hochhaus für seinen wissenschaftlichen Beistand, nicht nachlassende Motivationsgebung und geduldige Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit zu der ich nach einer bereits länger andauernden klinischen Tätigkeit auf dem Gebiet der allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation fand.

Ein weiterer Dank geht an Herrn PD Dr. med. Herbert G. Sayer, der 2006 als Leiter des klinischen Stammzellprogrammes bei erwachsenen Patienten am Universitätsklinikum Jena begann Everolimus bei Patienten mit fortgeschrittener chronischer GvHD einzusetzen und ich von seinem Wissen um die mTOR-Inhibitorsubstanz anfangs sehr profitierte und von seinen klinischen Erfahrungen in GvHD-Therapie lernen konnte.

Danken möchte ich allen ärztlichen Kollegen, die die Patienten mit cGvHD in der Stammzelltransplantationsambulanz der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums Jena engagiert mitbetreut haben: Frau Dr. med. K. Schilling, Frau Dr. med. Katrin Weiß, Herr Dr. med. Frank Pester und Herr Dr. phil. Volker Schmidt. Für die interessanten Gespräche und den fachlichen Austausch in der Therapie von Patienten mit cGvHD danke ich sehr der jetzigen Sektionsleiterin für Stammzelltransplantation der KIM II Frau PD Dr. med. Inken Hilgendorf.

Dank für die passagere Übernahme der Promotionsbetreuung gebührt Frau Prof. Dr. med. Katharina Pachmann.

Für die EDV-basierende Patientenrecherche danke ich Frau Kristina Kluziok (IT-Managerin der KIM II). Des Weiteren danke ich Frau Gudrun Bär (Universitätsrechenzentrum der FSU Jena) für die freundliche Unterstützung bei Beschaffung der Statistiksoftware SPSS. Für die Unterstützung in der Anforderung von Patientenakten aus dem Archiv bedanke ich mich sehr bei Frau Anja Markusch des Koordinations- und Dokumentationsbüros.

Für die Unterstützung aus meiner Familie möchte ich mich abschließend ganz herzlich bedanken.